

Université de Montréal

**Étude de la distribution taxonomique du système de double hérédité
uniparentale des mitochondries**

Par
Arthur Gusman

Département de sciences biologiques
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade M. Sc.
en Sciences biologiques

Août, 2016

© Arthur Gusman, 2016

Résumé

La mitochondrie est un organe intracellulaire permettant la production d'énergie nécessaire à la survie de la cellule. Sa singularité passe par le fait qu'elle possède son propre génome (ADN mitochondrial ou ADNmt) distinct du génome nucléaire (ADNnu). Aussi, contrairement à l'ADNnu qui est transmis par les deux parents, l'ADNmt est lui hérité seulement par la mère chez les animaux. Exceptionnellement, un seul système connu va à l'encontre de cette « loi » d'hérédité. Il s'agit du système de double hérédité uniparentale (Doubly Uniparental Inheritance ou DUI) retrouvé chez plusieurs espèces de bivalves. Les espèces concernées possèdent ainsi 2 lignées d'ADNmt distinctes : une d'origine paternelle (ADNmt M) transmise seulement de pères en fils, et une d'origine maternelle (ADNmt F) transmise par la mère à la fois aux filles et fils. L'hypothèse privilégiée pour expliquer le maintien du système DUI au cours de l'évolution l'engage dans la détermination sexuelle chez les bivalves mais la vérification de cette hypothèse repose entre-autre sur une étude plus élargie de différents systèmes DUI. Jusqu'à maintenant, le DUI a été trouvée chez 46 espèces de bivalves, mais sa distribution chez ce groupe est certainement plus vaste étant donné le nombre d'espèces vivantes estimé à >20000. L'objectif de ce projet est d'étudier (et d'élargir) la distribution taxonomique du système DUI au sein du groupe des mollusques afin d'obtenir les prérequis indispensables à une meilleure compréhension de sa fonction mais également pour en retracer l'origine. Les résultats suggèrent l'absence du système DUI chez cinq espèces de gastéropodes et confirment sa découverte chez deux nouvelles espèces et familles de bivalves [i.e. *Scrobicularia plana* (Semelidae) et *Yoldia hyperborea* (Yoldiidae)]. En s'appuyant sur les résultats phylogénétiques, nous favorisons l'hypothèse d'une origine unique pour ce système. Finalement, la nouvelle distribution taxonomique proposée ici confirme la présence du système DUI chez 103 espèces de bivalves appartenant à 12 familles.

Mots-clés : Mitochondrie, ADN mitochondrial, Double hérédité uniparentale, Bivalves, Taxonomie, Phylogénie, *Scrobicularia plana*, *Yoldia hyperborea*.

Abstract

Mitochondria are semi-independent organelles, mostly known for their role in energy production necessary for cell survival. Several characteristics make them unique: they have their own genome, the mitochondrial DNA (mtDNA), and contrary to the nuclear genome (nuDNA), they are inherited uniparentally by Strict Maternal Inheritance (SMI) in animal species. Exceptionally, one model of mitochondrial inheritance found in some Bivalvia goes against the rule of SMI. It is called the Doubly Uniparental Inheritance (DUI) system. The species concerned possess two distinct mitochondrial lineages: one transmitted by the male (M mtDNA) to his sons only, and the other by the female to both sons and daughters. The most likely hypothesis to explain the retention of the DUI system in evolution involves him in sexual determination in bivalves but a widened study on different DUI systems is needed to verify this hypothesis. Until now, the DUI system has been described in 46 bivalve species but its distribution in this group might be broader given the total number of living species estimated to >20000. This project aimed to study (and broaden) taxonomic distribution of DUI within mollusks as a necessary prerequisite to a better understanding of its function and its origin. The results suggest the absence of DUI in five gastropods species and confirm its discovery in two new bivalves species and families [i.e. *Scrobicularia plana* (Semelidae) and *Yoldia hyperborea* (Yoldiidae)]. Based on phylogenetic data, we favor the hypothesis of a single origin of DUI. Finally, the new taxonomy proposed here confirms the presence of the DUI system in 103 bivalves species belonging to 12 families.

Keywords: Mitochondria, Mitochondrial DNA, Doubly Uniparental Inheritance, Bivalves, Taxonomy, Phylogeny, *Scrobicularia plana*, *Yoldia hyperborea*

Table des matières

Résumé	ii
Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures	vii
Liste des sigles et abréviations.....	viii
Remerciements.....	ix
1. INTRODUCTION.....	1
1.1. La mitochondrie	2
1.1.1. Origine des mitochondries	2
1.1.2. Fonctions mitochondriales : entre survie et mort cellulaire	3
1.1.3. L'ADN mitochondrial chez les métazoaires	4
1.1.4. La communication mito-nucléaire	7
1.1.5. Hérité maternelle de l'ADNmt : une règle universelle ?	9
1.2. Le système de double hérédité uniparentale.....	10
1.2.1. Le modèle DUI : l'exception à la règle	10
1.2.2. Biologie élémentaire des bivalves : taxonomie, phylogénie et anatomie ..	14
1.2.3. Distribution taxonomique du système DUI	16
1.2.4. La question de l'origine du DUI	17
1.3. Objectifs et hypothèses	19
2. Article 1: No evidence of sex-linked heteroplasmy and doubly uniparental inheritance of mtDNA in five gastropod species	21
2.1. Introduction	22
2.2. Materials & Methods	23

2.3. Result/Discussion.....	24
3. Article 2: Pursuing the quest for better understanding the taxonomic distribution of the system of doubly uniparental inheritance of mtDNA	29
3.1. Abstract.....	30
3.2. Introduction	30
3.3. Materials and Methods	32
3.3.1. Specimen's collection.....	32
3.3.2. DNA extraction, Polymerase Chain Reaction Amplification and Sequencing.....	33
3.3.3. DNA Cloning and Sequencing	33
3.3.4. Sequence Analysis	34
3.4. Results	37
3.4.1. Genetic distances.....	37
3.4.2. Phylogenetic analyses for Scrobicularia plana and Yoldia hyperborea.....	38
3.4.3. Taxonomic distribution of DUI.....	38
3.4.4. Phylogenetic analyses.....	42
3.5. Discussion.....	43
3.5.1. Evidence for DUI in Scrobicularia plana and Yoldia hyperborea.....	43
3.5.2. Taxonomic distribution of DUI in bivalves: an update.....	45
3.5.3. Phylogenetic analyses and the origin of DUI.....	45
4. DISCUSSION	53
4.1. La détection du système DUI	54
4.2. Réflexion générale sur le système DUI : émergence, maintien et fonction	57
4.3. Priorités de recherche et contribution générale du système DUI	63
Bibliographie	66
ANNEXES.....	xi
Annexe 1: Tableaux supplémentaires.....	xii
Annexe 2: Figures supplémentaires.....	xv

Liste des tableaux

Tableau I. Caractéristiques du génome mitochondrial chez différentes espèces	5
Table II. Number of DNA sequences for each species and each mitochondrial gene	26
Table III. Complete phylogenetic dataset used for phylogenetic reconstruction	35
Table IV. Number of sequences obtained for each mitochondrial genes and species	38
Table V. The complete list of species with DUI known to date	39
Tableau VI. Tableau complet des espèces testées dans le cadre de ce projet de maîtrise.	57
Table SI. Nucleotide Pairwise-distance for each marker and species	xii
Table SII. Amino acid Pairwise-distance for each marker and species	xii
Table SIII. List of the best fitting-models for the nucleotide phylogenetic analyses according to BIC value	xiii

Liste des figures

Figure 1. Génome mitochondrial typique chez les métazoaires.....	6
Figure 2. Les 5 complexes du système de phosphorylation oxydative (OXPHOS).....	7
Figure 3. La double transmission uniparentale de l'ADNmt chez les bivalves.....	12
Figure 4. Relations phylogénétiques des bivalves selon Plazzi et al. (2011) basées sur une analyse bayésienne de 4 marqueurs mitochondriaux (<i>ARNr 12S</i> , <i>ARNr 16S</i> , <i>cox1</i> , <i>cytb</i>)...	16
Figure 5. Les trois phylogénies possibles des génomes mitochondriaux mâles et femelles pour deux taxons.....	18
Figure 6. Gastropod species used in this study.....	23
Figure 7. Bayesian inference majority-rule tree of bivalve mitochondrial <i>cox1</i> partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model.	48
Figure 8. Bayesian inference majority-rule tree of Unionoida bivalve male mitochondrial <i>cox1</i> partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model.....	49
Figure 9. Bayesian inference majority-rule tree of Unionoida bivalve Female mitochondrial <i>cox1</i> partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model...	50
Figure 10. Bayesian inference majority-rule tree of Mytiloida, Nucleanoida and Veneroida bivalve mitochondrial <i>cox1</i> partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model.....	51
Figure S1. Les relations phylogénétiques chez les bivalves proposées par différents auteurs.....	xv
Figure S2. Anatomie interne des bivalves.....	xvi
Figure S3. Maximum Likelihood Phylogenetic tree of bivalve mitochondrial <i>cox1</i> partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model.....	xvii
Figure S4. Maximum parsimony 50% majority-rule consensus tree obtained from <i>cox1</i> gene partial sequences.....	xviii
Figure S5. Phylogenetic tree based on <i>cox1</i> partial sequences of <i>Scrobicularia plana</i>	xix
Figure S6. Phylogenetic tree based on <i>cox1</i> partial sequences of <i>Yoldia hyperborea</i>	xx
Figure S7. Liste complète des séquences obtenues dans le cadre de ce projet de maîtrise.....	lvii

Liste des sigles et abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADNmt	ADN mitochondrial
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
BI	Bayesian inference
BIC	BI criterion
Cox1	Sous-unité du cytochrome c oxydase
Cytb	Cytochrome b
dNTP	Désoxyribonucléotides
DUI	Double hérédité uniparentale (Doubly Uniparental Inheritance)
ML	Maximum likelihood
MP	Maximum parsimony
N	Taille de l'échantillon
ng	Nanogramme
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
ORF	Open reading frames
OXPHOS	Système de phosphorylation oxydative
PCR	Polymerase Chain reaction
Sp.	Espèce
SMI	Hérédité strictement maternelle
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
µl	Microlitre
ARNr 12S	ARN ribosomique codant pour la petite sous-unité mitochondriale
ARNr 16S	ARN ribosomique codant pour la grande sous-unité mitochondriale
ARNr 18S	ARN ribosomique codant pour la petite sous-unité nucléaire
ARNr 28S	ARN ribosomique codant pour la grande sous-unité nucléaire

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été rendu possible grâce au concours de plusieurs personnes envers lesquelles je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Pour commencer, évidemment, je voudrais adresser mes plus grands remerciements à ma directrice de recherche, Sophie Breton, sans qui rien n'aurait été possible au cours de ses deux dernières années. Merci pour ton soutien sans faille, grâce à toi j'ai pu remplir un de mes objectifs de vie, à savoir laisser une trace écrite de mon vivant. Merci pour ton enthousiasme quotidien que ce soit à l'université ou en dehors, cela m'a permis de prendre du plaisir à faire mon travail. Enfin, merci pour ta disponibilité et ton efficacité dans tous ce qui concernait les expériences en laboratoire, les conférences et les articles. Félicitations à toi dans ta gestion du laboratoire dans son ensemble et je reste persuadé que tu deviendras une très grande chercheuse.

Merci également à mes trois co-directeurs de recherche, Christiane Hudon, Marco Passamonti et Donald Stewart pour votre aide respective sur les articles scientifiques.

Vient ensuite tous les membres du laboratoire avec qui j'ai partagé ses deux dernières années : Claudia, Lucie, Karim, Joël et Ariane. Votre présence était indispensable à la bonne cohésion du groupe. Merci à toi Davide pour tes conseils judicieux concernant les articles écrits. Enfin, je voudrais adresser une mention spéciale à trois de mes collègues. Ioana tout d'abord, je te dois énormément, tu m'as formé sur tout ce que je devais savoir et faire dans le laboratoire, et de la bonne manière. Ensuite, mon italien préféré après Marco Verratti, Stefano, je veux te remercier de ta joie de vivre quotidienne qui est contagieuse, des repas et des bières partagées, en espérant que ce ne soit pas les derniers. Finalement, Charlotte, ma fidèle compagne de laboratoire/cubicule, je n'aurais pas pu espérer mieux comme collègue ces deux dernières années. Je me souviendrais toujours des congrès passé ensemble et des différentes soirées. Garde de ton sourire permanent et tout ira bien pour toi j'en suis sûr. Un grand merci à vous tous !

Je tiens également à remercier le département de Sciences Biologiques de l'Université, en particulier tous les gens qui travaillent au secrétariat et également le laboratoire du Dr Bernard Angers qui faisait en sorte que le sous-sol ne soit jamais silencieux.

Un grand merci à la famille pour votre soutien même si vous ne comprenez rien à ce que je fais. Merci pour les skypes dominicaux les parents et surtout toi ma belle Mimi. Je remercie mes frères aussi, je ne sais pas trop pour quelles raisons par contre. Merci à tous mes meilleurs amis pour les vacances passées ensemble, le fameux adage de Booba s'applique à vous, « je n'ai que des frères, je n'ai pas d'ami ». Merci aussi à ceux qui partagent mon quotidien de ces dernières années, mes colocataires Axel et Brams, puis ma copine évidemment, ma Rillette. Finissons avec les gens que je ne connais pas mais qui m'ont divertis tous au long de ces deux années : l'équipe du PSG, Damu the Fudgemunk, Pete Rock, Dvořák, Chopin, Andrés et Move D pour ne citer qu'eux.

À toutes ces personnes, et celles que j'ai dû oublié dans ce chapitre, mille mercis.

1. INTRODUCTION

11. La mitochondrie

1.1.1. Origine des mitochondries

Les récents débats à propos de l'évolution des cellules eucaryotes ont longtemps été associés à la question de l'origine mitochondriale (López-García et Moreira, 1999; Roger, 1999). Certains auteurs soutiennent même que l'origine des eucaryotes et des mitochondries constituerait un seul et même événement (Lane et Martin, 2010). Si le débat sur l'origine des cellules eucaryotes reste ouvert, plusieurs résultats permettent d'affirmer la nature endosymbiotique des mitochondries. Cette théorie endosymbiotique, ou hypothèse pour les plus sceptiques, avance l'idée que non seulement les mitochondries, mais aussi les plastides des cellules eucaryotes proviennent de l'endocytose d'une bactérie primitive par une cellule eucaryote tout aussi primitive. Les premières mentions de cette théorie font leur apparition à la fin du 19^{ième} siècle (Altmann, 1890), mais ce n'est qu'un siècle plus tard qu'elle sera popularisée par la biologiste Lynn Margulis dans son livre « *Symbiosis in cell evolution* » paru en 1981 (Margulis, 1981). La présence d'une double membrane cellulaire, d'un génome, d'une machinerie de traduction, ainsi qu'un mode de reproduction par fission et fusion, sont autant d'éléments qui ont amené la communauté scientifique à soutenir cette théorie endosymbiotique des mitochondries (Margulis, 1981; Scheffler, 2008).

Le plus vieux microfossile eucaryote retrouvé jusqu'à aujourd'hui remonte à 1.45 milliards d'années (Martin et Mentel, 2010). Étant donné la coïncidence entre la naissance des eucaryotes et celle des mitochondries, cette date peut être vue comme l'âge minimum des mitochondries (Embley et Martin, 2006). Les analyses phylogénétiques basées sur les séquences des gènes mitochondriaux de la sous-unité 1 de la cytochrome *c* oxydase et du cytochrome *b* confirment également que les mitochondries ancestrales auraient divergé des bactéries il y a $\approx 1,5$ Ga (Sichert-Ponten et *al.* 1998). La phylogénie s'est également avérée être un outil précieux pour déterminer le plus proche parent des mitochondries. En se basant sur des séquences protéiques et d'ARN ribosomal (ARNr) du génome mitochondrial, les reconstructions phylogénétiques ont placé l'ancêtre des mitochondries dans la subdivision des α -protéobactéries, plus précisément dans la famille des Rickettsiaceae (Gray, 1998; Gray et *al.* 1999; Lang et *al.* 1999; Gray et *al.* 2001). Cette famille de parasites

intracellulaires obligatoires regroupe entre autre l'espèce *R. prowazekii* responsable du typhus. Le destin évolutionnaire de l'ancêtre de cette bactérie et de ses espèces sœurs nous offre ainsi une des plus grandes ironies de la biologie évolutive. D'un côté, cet ancêtre est à l'origine de l'un des plus grands fléaux affectant l'humain (Typhus + fièvre boutonneuse). De l'autre côté, il a participé à un événement crucial dans l'évolution de la vie sur terre, l'apparition des mitochondries.

1.1.2. Fonctions mitochondriales : entre survie et mort cellulaire

Au cours des dernières décennies, les mitochondries se sont fait connaître comme un acteur des plus pertinents dans la recherche que ce soit dans le domaine médical, chimique ou biologique. Il suffit de jeter un regard aux prix Nobel des années précédentes pour illustrer cette idée : dans la catégorie physiologie et médecine il y a eu Otto Heinrich Warburg en 1931 « pour sa découverte de la nature et du mode opératoire de l'enzyme respiratoire », et Hans Adolf Krebs en 1953 « pour sa découverte du cycle de l'acide citrique ». Dans la catégorie chimie il y a eu Sir Alexander Todd en 1957 « pour son travail sur les nucléotides et leurs coenzymes », Peter Mitchell en 1978 « pour sa théorie de la chimiosmose mitochondriale » et finalement Paul Boyer et John Walker en 1997 « pour l'élucidation des mécanismes enzymatiques sous-jacents à la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP) ».

L'attention portée aux mitochondries est justifiée par la multitude de rôles qu'elles assument dans les cellules. En effet, les mitochondries sont impliquées dans la synthèse d'hormones stéroïdiennes, l'homéostasie ionique (Ca^{2+} , Na^+ , K^+), la signalisation cellulaire, la différenciation cellulaire et la mort cellulaire programmée ou apoptose (Scheffler, 2008). Paradoxalement, si l'on considère leur implication dans l'apoptose, la fonction principale des mitochondries est d'assurer la survie cellulaire en participant à 95% de la production d'énergie sous forme d'ATP grâce au système de phosphorylation oxydative (OXPHOS) et au cycle de Krebs (Scheffler, 2008). Les 5% restants sont synthétisés lors de la glycolyse. L'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi (Phosphate inorganique) va fournir l'énergie nécessaire aux réactions chimiques du métabolisme (e.g. contractions musculaires, transport ionique, synthèses protéique et nucléotidique, polymérisation des filaments d'actine, etc.). Le revers de la médaille à exercer toutes ces fonctions tient au fait

que les mitochondries sont impliquées dans diverses pathologies à la fois communes et même fatales pour certaines. Jusqu'à présent, plus d'une centaine de maladies mitochondriales, ou d'origines mitochondriales, ont été recensées chez l'humain (Taylor et Turnbull, 2005). Parmi les plus connues on compte le diabète, le cancer, les ischémies cardiaques et cérébrales ou encore des maladies neurodégénératives (e.g. Alzheimer et Parkinson). De ce fait, les mitochondries se placent comme une cible pharmacologique de première importance. À l'origine de ces maladies se trouve la plupart du temps une cause génétique. Ces mutations peuvent affecter à la fois les gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales ou directement le génome mitochondrial (e.g. Mutation A3243G responsable du syndrome MELAS) (Majamaa, 1997). Une production excessive de radicaux libres oxygénés par la mitochondrie favorise également la naissance de ces maladies (Chinnery, 2014).

1.1.3. L'ADN mitochondrial chez les métazoaires

La singularité des mitochondries se retrouve dans le fait qu'elles sont les seules organelles cellulaires, à part le noyau, à posséder leur propre génome, l'ADN mitochondrial (ADNmt) (Boore, 1999). Ce génome est souvent présent en milliers de copies à l'intérieur d'une cellule animale. Cependant, en fonction de la demande en énergie et du type de tissu, ce nombre peut varier grandement : on estime à 7000 le nombre de molécules d'ADNmt dans les cellules du myocarde et à 3500 dans les cellules des muscles squelettiques, tandis que les cellules du foie, des reins et des poumons peuvent en contenir entre 500 et 2000 copies (Miller et al. 2003; D'Erchia et al. 2014). Cette différence de contenu en ADN mitochondrial est également responsable d'une expression génique variable entre les types cellulaires. Comprendre les mécanismes sous-jacents à cette différence de distribution, de réplication et d'expression est de nos jours une priorité médicale dans la lutte contre les cancers (Guantes et al. 2015). Si le génome mitochondrial se distingue par plusieurs aspects du génome nucléaire (e.g. nombre de copies par cellule et taille du génome), une différence notable se retrouve dans les codes génétiques (Boore et al. 1999). Par exemple, chez les mammifères le codon AGA qui code pour l'arginine dans le noyau se retrouve être un codon STOP dans la mitochondrie. Au total, 11 codes génétiques mitochondriaux

différents ont été répertoriés dans le règne du vivant (Petoukhov, 2009).

Entre ces différents règnes (Protista, Fungi, Plantae, Animalia), le génome mitochondrial présente des variations importantes au niveau de sa structure, de sa taille et de sa capacité codante (Tableau I). En revanche, à l'intérieur de chacun de ses groupes, la molécule d'ADNmt est nettement plus conservée. Chez les métazoaires, notre groupe d'intérêt pour cette étude, l'ADNmt se présente en règle générale sous la forme d'une molécule circulaire, double brin, avec une région de contrôle non codante, la « D-loop », contenant l'origine de réplication ainsi que les promoteurs de transcription (Shadel et Clayton, 1997). Les autres portions non codantes sont les régions intergéniques, très courtes, tandis que les introns sont inexistantes (Boore, 1999). Ce génome s'étend en moyenne sur 15 000 à 20 000 paires de base et encode les mêmes 37 gènes : 22 ARN de transfert (ARNt), 2 ARN ribosomiaux (ARNr) et 13 protéines impliquées dans le système OXPHOS (Figure 1) ; les gènes *nd1-6* et *nd4L* codent pour des protéines du complexe de la NADH déshydrogénase, le gène *cytb* pour une protéine du complexe de l'ubiquinol-cytochrome *c* oxydoréductase, les gènes *cox1-3* pour des protéines du complexe de la cytochrome *c* oxydase et enfin les gènes *atp6* et *atp8* pour des protéines du complexe de l'ATP synthase (Boore, 1999). Les exceptions à ce portrait typique du génome mitochondrial chez les espèces animales ont récemment été revues par Breton et al. (2014).

Tableau I. Caractéristiques du génome mitochondrial chez différentes espèces.

Règne	Espèce	Taille de l'ADNmt	Nombre de gènes codés
Protista	<i>Paramecium tetraurelia</i>	40 kb	50
Fungi	<i>Schizophyllum commune</i>	49, 7 kb	40
Plantae	<i>Arabidopsis thaliana</i>	367 kb	60
Animalia	<i>Homo sapiens</i>	16, 5 kb	37

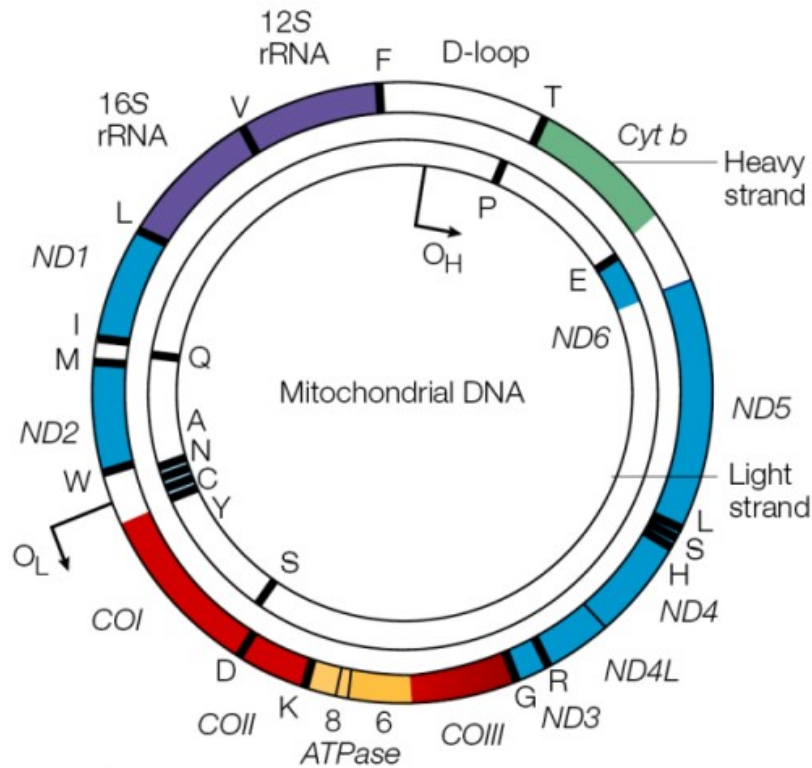


Figure 1. Génome mitochondrial typique chez les métazoaires. Figure tirée Chial et Craig, 2008.

Par exemple, la taille du génome mitochondrial peut aller d'un peu plus de 10kb chez le cténophore *Mnemiopsis leidyi* (Pett et al. 2011) à plus de 46kb chez le bivalve *Scapharca broughtonii* (Liu et al. 2013). Les différences de taille des ADNmt chez les animaux sont principalement dues : (i) aux variations de longueur de la région de contrôle D-loop, (ii) au nombre de séquences dupliquées présentes dans le génome et (iii) aux différents taux de transfert des gènes mitochondriaux vers le noyau lors de son évolution (Boore et al. 1999). Au niveau structural, plusieurs espèces de cnidaires (méduses, polypes, anémones) ont des génomes linéaires avec des gènes dupliqués, ou perdus, séparés par des introns. Par exemple, l'anémone de mer *Metridium senile* possède des introns de groupe I dans la séquence codante des gènes *cox1* et *nd5* (Ehsan et al. 2011). Au niveau des contenus géniques mitochondriaux atypiques chez les métazoaires, on retrouve la perte du gène *atp6* chez les cténophores *Mnemiopsis leidyi* et *Pleurobrachia bachei* (Pett et al. 2011; Kohn et al. 2012) et la duplication du gène *cox2* chez plusieurs espèces de bivalves (Passamonti et al. 2011; GenBank AB065375.1). Même chez l'humain, trois nouveaux gènes codant pour

des protéines ont récemment été découverts à l'intérieur de l'ARNr 16S, de l'ARNr 12S et sur le brin inverse de *cox1*, soient les gènes *humanine*, *MOTS-c* et *gau*, respectivement (Lee et al. 2013; Capt et al 2015; Lee et al. 2015). Aux vues des variabilités du contenu génétique il semble évident que les génomes mitochondriaux ont subi une évolution propre aux espèces qu'ils « habitent ». Par la présence du génome mitochondrial, la cellule animale apparaît donc comme une chimère génétique dont l'intégrité dépend de l'association de deux organites ayant leur propre génome.

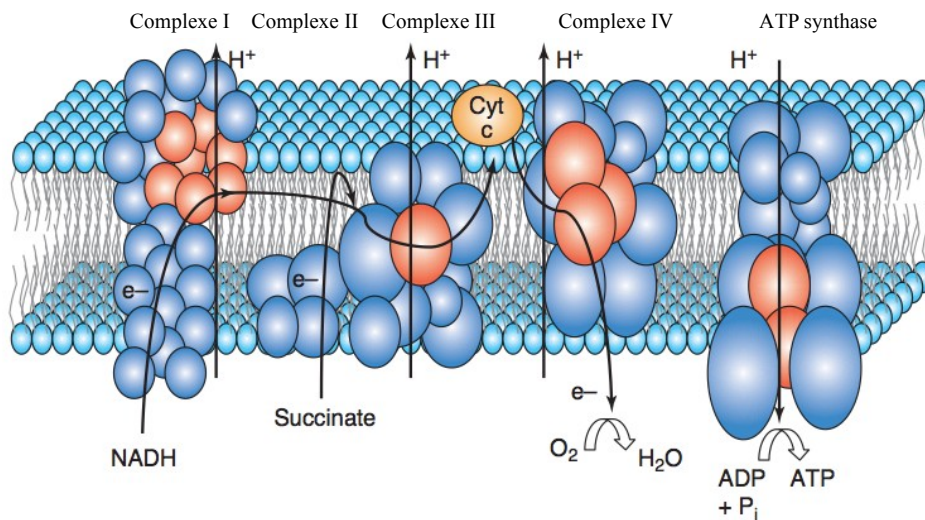


Figure 2. Les 5 complexes du système de phosphorylation oxydative (OXPHOS). En rouge sont représentées les sous-unités codées par le génome mitochondrial et en bleu celles codées par le génome nucléaire. Figure tirée de Rand et al. 2004.

1.1.4. La communication mito-nucléaire

La mitochondrie est qualifiée d'organe semi-autonome. Derrière ce « semi » se cache le concept de communication mito-nucléaire. En effet, avec seulement 13 gènes codant pour des protéines, la mitochondrie ne peut pas assurer seule le fonctionnement du système OXPHOS et encore moins le poids de son propre métabolisme. L'aide du génome nucléaire est indispensable, par exemple, sur les 89 sous-unités entrant dans la composition des

complexes enzymatiques du système OXPHOS, 76 sont d'origine nucléaire (Rand et *al.* 2004) (Figure 2). L'ADNnu est également responsable de la production de la totalité des enzymes de la matrice mitochondriale, notamment celles du cycle de Krebs, et de tous les facteurs impliqués dans les autres fonctions mitochondriales (Rand et *al.* 2004). Chez l'humain, on estime que sur les quelques 1050 protéines retrouvées à l'intérieur d'une mitochondrie, 98% d'entre elles sont codées par le génome nucléaire (Pfanner et Wiedemann, 2002). Autrement dit, l'activité des mitochondries dépend donc de l'expression coordonnée de deux systèmes génétiques séparés spatialement, le génome nucléaire et le génome mitochondrial (Blier et *al.* 2006).

Ces deux génomes sont contraints à co-évoluer et communiquer pour maintenir une fonction mitochondriale optimale sur le long terme (Blier et *al.* 2006). Advenant qu'un des deux génomes évoluerait de façon indépendante, la nature des interactions n'en serait que perturbée, on parle alors d'incompatibilité mito-nucléaire. Les études avec des cybrides (fusion entre des cellules nucléées dépourvues de mitochondries et d'autres cellules énucléées avec des mitochondries divergentes des mitochondries natives) ont permis d'illustrer ce phénomène. Par exemple, en créant des cybrides xenomitochochondriaux, soit des lignées cellulaires mélangeant « noyau et cytoplasme humain » et « mitochondries de gorille », Antoni Barrientos et son équipe ont observé une diminution de 40% de la consommation d'oxygène par le complexe I par rapport à une cellule humaine « normale » (Barrientos et *al.* 1998). Des résultats similaires ont été obtenus en prenant comme modèle d'étude différentes espèces de muridés (McKenzie et *al.* 2003). En introduisant le génome mitochondrial de six espèces (*Mus spretus*, *Mus caroli*, *Mus dunni*, *Mus pahari*, *Otomys irroratus* et *Rattus norvegicus*) dans des cellules de l'espèce modèle *Mus musculus* dont on avait retiré les mitochondries, les auteurs ont observé un déclin de l'activité des complexes I, III et IV du système OXPHOS. Ils ont également remarqué que le déclin de l'activité est proportionnel à l'éloignement phylogénétique. Dans le même ordre d'idée, l'analyse comparée de séquences mitochondriales et de séquences nucléaires impliquées dans le métabolisme mitochondrial a permis d'observer une accélération parallèle du taux de substitutions entre les 2 génomes pour maintenir une cohésion fonctionnelle (Wu et *al.* 2000).

Pour illustrer le concept de communication mito-nucléaire, les études génomiques

des mitochondries de la levure *Saccharomyces cerevisiae* se sont avérées extrêmement pertinentes. Plusieurs équipes de chercheurs se sont dédiés à la création d'une collection presque complète de levures « mutantes délétées » (5943 lignées mutantes) pour lesquelles un seul gène nucléaire avait été enlevé (Winzeler et *al.* 1999). Spécifiquement, chaque gène nucléaire a été remplacé de façon à ce que toute délétion causant un dysfonctionnement mitochondrial empêchera la levure de croître sur un milieu contenant un substrat non-fermentable comme le lactate. En se basant sur cette technique les chercheurs ont pu identifier 466 gènes nucléaires dont les délétions altèrent la fonction mitochondriale chez la levure *S. cerevisiae* (Steinmetz et *al.* 2002). Pour appliquer ces découvertes aux troubles mitochondriaux chez l'humain, les gènes orthologues ont été identifiés et liés aux maladies héréditaires associées (Steinmetz et *al.* 2002).

1.1.5. Hérédité maternelle de l'ADNmt : une règle universelle ?

Une des particularités du génome mitochondrial réside dans son mode d'hérédité qui, contrairement à l'ADN nucléaire, est strictement maternelle (Strict Maternal Inheritance ou SMI) (Birky, 1995). On parle donc d'hérédité non mendélienne dans le cas de l'ADN mitochondrial. Ce mode d'hérédité est la caractéristique commune à la quasi-totalité des taxons eucaryotes, incluant les algues, les mousses (bryophytes), les champignons, les fougères (gymnospermes), les plantes supérieures et les animaux (Birky, 1995). L'absence de transmission de l'ADNmt paternel est expliquée par l'élimination de ces derniers en deux étapes : (1) le nombre de nucléoides mitochondriaux (ADNmt + protéines associées) va diminuer progressivement au cours de la spermatogénèse puis (2) les mitochondries et/ou l'ADNmt des spermatozoïdes seront dégradés par divers mécanismes juste après la fécondation (Nishimura et *al.* 2006). Chez l'humain par exemple, l'action combinée d'un marquage à l'ubiquitine et une dégradation par le protéasome sont responsables de cette dégradation (Taylor et Rutter, 2011). Cependant, une multitude de mécanismes assurant la transmission strictement maternelle des mitochondries existent en fonction de l'espèce concernée (Sato et Sato, 2013). Le processus d'élimination des mitochondries paternelles n'est cependant pas infaillible. Il arrive que dans certaines situations l'ADNmt paternel passe entre les mailles du filet, on parle alors de « fuite du génome paternel » (*paternal*

leakage). Ce phénomène a été observé chez les nématodes (Lunt et Hyman, 1997), les arthropodes (Meusel et Mortitz, 1993), ainsi que les vertébrés (Kvist et *al.* 2003; Zhao et *al.* 2004), mais cela reste une exception.

Les raisons évolutives liées à la quasi-universalité de l'hérédité uniparentale des mitochondries restent encore floues mais certaines hypothèses ont déjà été proposées. Dans un premier cas, il a été proposé que le système SMI aurait évolué pour limiter la propagation de mutations délétères (Sato et Sato, 2013). Par exemple, en cas de mutation pathologique, seule la lignée paternelle serait amenée à l'extinction et non la population entière (Birky, 1995). La deuxième hypothèse serait directement en lien avec la communication mito-nucléaire. En dégradant ainsi les mitochondries issues du spermatozoïde lors de la fertilisation de l'œuf, la SMI assure que les mitochondries de chaque cellule d'un organisme possèdent un même et unique génome mitochondrial, une situation nommée homoplasmie (par opposition à hétéroplasmie, où un organisme possède plusieurs génomes mitochondriaux génétiquement différents). Avec un seul type d'ADNmt, la cellule évite un conflit inter-génomique dans l'association entre les protéines codées par l'ADNnu et l'ADNmt pour les fonctions mitochondriales. D'un point de vue évolutif, la SMI permettrait donc de faciliter la communication mito-nucléaire (Breton et *al.* 2011a).

Ce système d'hérédité a longtemps été considéré comme la règle universelle au sein du règne du vivant, mais c'était sans compter sur les bivalves qui ont bouleversé à eux seuls la vision de l'hérédité mitochondriale !

12. Le système de double hérédité uniparentale

1.2.1. Le modèle DUI : l'exception à la règle

En opposition au mode de transmission strictement maternel de l'ADNmt, certaines espèces de bivalves ont développé un système atypique et unique, le système de double hérédité uniparentale des mitochondries (*Doubly uniparental Inheritance* ou DUI) (Hoeh et *al.* 1991; Zouros et *al.* 1992, 1994a, b). Ce système a d'abord été découvert chez la moule bleue *Mytilus edulis* au début des années 1990 (Hoeh et *al.* 1991). Depuis, il a été observé

chez plusieurs espèces de moules marines (Bivalvia : Mytiloida), de palourdes marines (Bivalvia : Veneroida), de moules d'eau douce (Bivalvia : Unionoida) et de protobranchie (Bivalvia : Protobranchia) (Theologidis et *al.* 2008 ; Boyle et Etter, 2013). Les espèces possédant ce système se retrouvent avec deux lignées d'ADNmt d'origines distinctes : une transmise par la femelle à ses filles (lignée maternelle ou ADNmt F) et l'autre par le mâle à ses fils (lignée paternelle ou ADNmt M) (Zouros et *al.* 1994b). Au stade embryonnaire, les mitochondries présentent deux schémas de répartition caractéristique du sexe à venir de la progéniture : chez l'embryon destiné à devenir mâle, les mitochondries paternelles tendent à s'agréger dans un seul blastomère qui formera la future lignée germinale mâle, tandis que chez les futures femelles, les mitochondries paternelles sont éliminées ou dispersées aléatoirement et « diluées » dans la masse de mitochondries maternelles (Sutherland et *al.* 1998; Cao et *al.* 2004). En résultante, un mâle mature est hétéroplasmique, avec un ADNmt F dans ses tissus somatiques (pied, branchies, manteau, muscle, etc.) et un ADNmt M dans ses spermatozoïdes (dans la gonade) tandis que la femelle reste homoplasmiq (Dalziel et Stewart, 2002) (Figure 3). Toutefois, le génome mâle peut être retrouvé occasionnellement dans les tissus somatiques mâles et femelles à très faibles concentrations (Garrido-Ramos et *al.* 1998). En opposition à une logique de communication mito-nucléaire facilitée qui voudrait que ces deux génomes soient identiques, ils présentent des divergences de séquence nucléotidique conséquentes. La divergence moyenne avoisine les 20%, avec une valeur minimale de 8% chez la palourde *Arctica islandica* (Dégletagne et *al.* 2016) et une valeur maximale record de >40% chez la moule d'eau douce *Inversidens japonensis* (Theologidis et *al.* 2008 ; Doucet-Beaupré et *al.* 2010). Une telle divergence est le résultat d'une évolution moléculaire rapide et indépendante des deux génomes, particulièrement pour le génome paternel qui serait soumis à une faible pression sélective étant donné que son action serait limitée au tissu gonadique (Stewart et *al.* 1996).

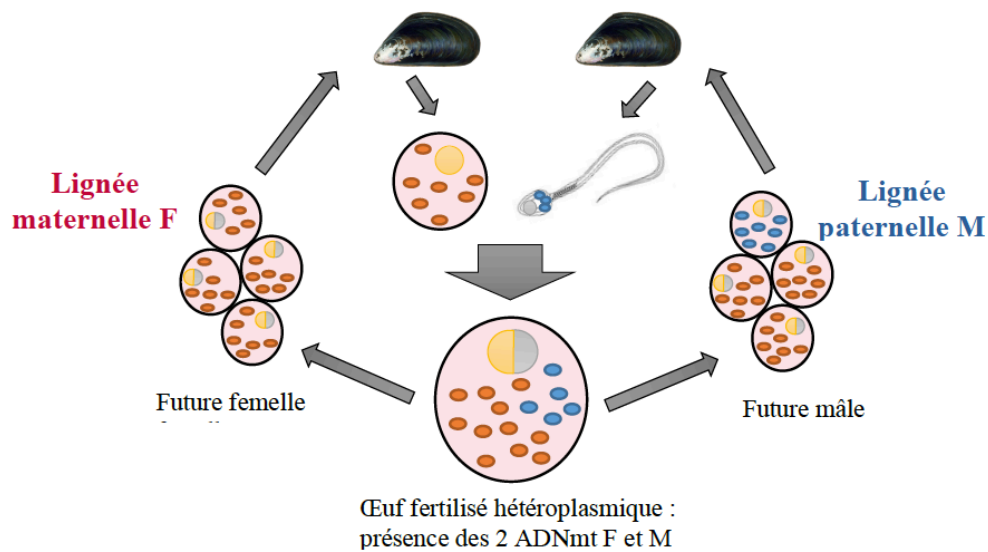


Figure 3. La double transmission uniparentale de l’ADNmt chez les bivalves. Figure tirée de Breton et *al.* 2007.

Les génomes mitochondriaux des bivalves avec DUI sont eux aussi uniques en leur genre. Tandis que le nombre de gènes mitochondriaux chez les espèces animales en général est quasi-invariant avec 37 gènes (Gissi et *al.* 2008), les espèces avec DUI possèdent des gènes supplémentaires. Par exemple, chez la moule marine *Musculista senhousia* et la palourde *Venerupis philipinarum*, le gène de la sous-unité 2 de la cytochrome *c* oxydase (*cox2*) et l’ARNt pour la méthionine sont dupliqués dans le génome femelle et dans le génome mâle, respectivement (Passamonti et *al.* 2011; Ghiselli et *al.* 2013). Chez toutes les espèces de moules d’eau douce, le gène *cox2* de l’ADNmt mâle seulement, présente une extension à son extrémité 3’ (Chapman et *al.* 2008). Les génomes des espèces avec DUI sont aussi caractérisés par la présence de plusieurs cadres de lectures (ORFs) conservés entre les espèces et dont les fonctions restent encore indéterminées (Zouros, 2013). Il est important de noter que la divergence de séquence entre les ADNmt F et M peut aussi être faible. Deux raisons potentielles sont, d’une part, l’homogénéisation par recombinaison comme chez la moule *Mytilus galloprovincialis* (Ladoukakis et Zouros, 2001) et d’autre part, la « masculinisation » du génome femelle (Sanko et Burzynski, 2014). Ce phénomène de masculinisation consiste au remplacement du génome M à l’intérieur de

la gonade par le génome F qui sera ensuite transmis par le spermatozoïde. Ce génome « masculinisé » jouerait ainsi le rôle du génome mâle tout en restaurant à zéro la divergence de séquence entre les génomes mâles et femelles.

La question principale soulevée par le système DUI est comment un système qui favorise l'hétéroplasmie mitochondriale au profit de l'homoplasme arrive-t-il à se maintenir au cours de l'évolution ? En effet, on sait que chez l'humain, une hétéroplasmie mitochondriale impliquant par exemple une molécule d'ADNmt qui contient une simple substitution d'une paire de base peut aboutir à des situations pathologiques. Chez les espèces avec DUI, les individus mâles sont hétéroplasmes pour des ADNmt qui peuvent présenter des divergences de séquences de 40%, soit littéralement la divergence entre une mitochondrie humaine et celle d'une drosophile. Autrement dit, quelle peut être la fonction du système DUI ? Si certaines caractéristiques essentielles de ce système sont connues (ex. lignées d'ADNmt F et M distinctes, hétéroplasmie chez les mâles, évolution moléculaire rapide des génomes, perte du DUI chez les espèces hermaphrodites, etc.), jusqu'à présent ses mécanismes sous-jacents et sa fonction réelle demeurent toujours un mystère. Deux principales hypothèses, non exclusives, ont été formulées pour expliquer le maintien du système DUI d'un point de vue évolutif : (i) les deux génomes mitochondriaux sont impliqués dans la détermination du sexe (Breton et *al.* 2011a; Ghiselli et *al.* 2012), et (ii) l'ADNmt mâle participe à des fonctions spécifiques et nécessaires aux spermatozoïdes (Everett et *al.* 2004).

Cependant, aucune de ces hypothèses n'a pu être clairement vérifiée jusqu'à maintenant. Si l'on veut pouvoir faire des inférences à propos de son mécanisme d'action et de son rôle évolutif, il est crucial de mener les études du système DUI sur deux niveaux : d'un point de vue moléculaire en s'intéressant aux génomes mitochondriaux (et nucléaires) et à leur expression (e.g. transcriptomique, qPCR, etc.) chez des espèces proches parentes avec DUI *versus* SMI, et d'un point de vue taxonomique en recherchant et étudiant de nouveaux systèmes DUI présents dans des familles de bivalves jusque-là non étudiées. La seconde perspective d'étude est celle utilisée pour ce projet de maîtrise.

1.2.2. *Biologie élémentaire des bivalves: taxonomie, phylogénie et anatomie*

La maîtrise des principes de base de la biologie des bivalves est nécessaire pour comprendre les différentes étapes qui composent ce projet. Le présent chapitre n'est pas un écrit détaillé de la biologie des bivalves, mais plutôt un résumé d'informations pertinentes à ce projet concernant leur taxonomie et anatomie.

Les bivalves appartiennent à l'embranchement des mollusques. Ce phylum est divisé en 6 classes : les polyplacophores, les chaetodermomorphes, les céphalopodes (e.g. calamar, pieuvres, seiches, etc.), les scaphopodes, les bivalves (e.g. huître, pétoncle, palourde, moule, etc.), et enfin les gastéropodes (e.g. escargots, limaces) (Kocot et *al.* 2011). Comme en témoigne les fossiles retrouvés, les bivalves sont apparus durant le Cambrien soit il y a plus de 530 millions d'années (Campbell et Reece, 2001). Il aura cependant fallu attendre l'extinction Permien-Trias (250 millions d'années) pour que ce groupe connaisse une véritable radiation évolutive (Sharma et *al.* 2013). Aujourd'hui le nombre d'espèces vivantes de bivalves est estimé à $\approx 25,000$ (www.bivatol.org), ce qui en fait le deuxième groupe le plus diversifié au sein des mollusques, après les gastéropodes.

Jusqu'à maintenant, aucun véritable consensus n'a été obtenu concernant la taxonomie des bivalves (Sharma et *al.* 2013) (Fig. S1). L'apparition des techniques de phylogénie moléculaire au début des années 2000 a tout de même permis de les classer selon des relations de parenté fidèles, à quelques exceptions près. Pour des raisons de clarté toutes les références taxonomiques présentées dans ce travail seront basées sur les travaux proposés par Plazzi et *al.* (2011) (Fig 4.). En utilisant les séquences ADN de quatre gènes mitochondriaux, à savoir les gènes *cox1*, *cytB*, *rrnL* et *rrnS*, Plazzi et *al.* (2011) ont classé les bivalves en 5 sous-classes (Protobranchia, Palaeoheterodonta, Anomalodesmata, Heterodonta et Pteriomorphia), 15 ordres (Arcoida, Cardioida, Carditoida, Myoida, Mytiloida, Nuculanoida, Nuculoida, Ostreoida, Pectinoida, Pholadomyoida, Pterioda, Solemyoida, Tellinoida, Unionoida et Veneroida) et 112 familles. Les Protobranchia sont considérés comme les bivalves les plus primitifs (Sharma et *al.* 2013). Ce sont les seuls dont les branchies n'interviennent pas dans le mode de nutrition et se limite à la respiration. La sous-classe des Palaeoheterodonta, les moules d'eau douce, est considérée comme la plus basale à l'intérieur des eulamellibranches (Palaeoheterodonta + Pteriomorphia +

Anomalodesmata + Heterodonta). La sous-classe des Anomalodesmata représente le premier point de discordance dans cette taxonomie. Certains experts persistent à penser qu'elle doit être considérée comme une sous-classe distincte, tandis que d'autres traitent ce taxon comme un ordre à part appartenant à la sous-classe des Heterodonta. Enfin, les sous-classes des Pteriomorphia et Heterodonta, en plus de se distinguer par leur biodiversité, sont probablement celles détenant le poids économique le plus important puisqu'elles regroupent à elles seules les moules marines (Bivalvia : Mytilidae), les huîtres (Bivalvia : Osteroidea), les pétoncles (Bivalvia : Pectinidae) et les palourdes (Bivalvia : Veneroidea). Le second point de discordance dans la phylogénie des bivalves concerne la super-famille des Nuculanoida. Certaines études la place dans les Pteriomorphia (Giribet et Distel, 2003; Plazzi et al. 2011), tandis que d'autres affirment qu'elle appartient au Protobranchia (Cope, 1997; Carter et al. 2011; Gonzalez et al. 2015).

L'anatomie externe des bivalves étant sans intérêt majeur pour cette étude seule l'anatomie interne sera décrite (Fig. S2). Le « corps » des bivalves est enveloppé dans un repli tégumentaire, le manteau, doublé à l'extérieur par la coquille (Helm et al. 2004). Outre la sécrétion des valves qui constitue la fonction principale du manteau, ce dernier assure aussi une fonction sensorielle et initie la fermeture des valves en réponse aux divers stress environnementaux (Helm et al. 2004). Les muscles adducteurs sont situés aux extrémités postérieures et antérieures de l'animal et servent essentiellement à l'ouverture et la fermeture des valves (Gosling, 2002). Certaines familles possèdent cependant un seul muscle central dont la fonction reste la même. C'est le cas de la famille des pétoncles (Bivalvia : Pectinida) (Shemway, 2016) dont le muscle, plus communément appelé noix de st-jacques, fait également le bonheur des fines bouches. Les branchies, ou cténidies, consistent en deux grands organes organisés en feuillets qui vont servir à la fois à la respiration et à la nutrition (sauf pour les protobranches) (Gosling, 2002). La masse viscérale occupe à elle seule la moitié de la place réservée aux organes (Morton, 1960). Elle comprend les intestins, l'œsophage et même les déchets produits. On retrouve à sa base le pied, dont la fonction majeure sert à s'enfouir dans le substrat (Yonge et Thompson, 1976). Enfin les gonades, le plus important pour notre étude puisqu'elles contiennent le génome paternel en cas de présence du DUI, sont généralement situées dans la masse viscérale (Yonge et Thompson, 1976), sauf pour certaines moules marines, dont *Mytilus*

edulis, où les gonades sont associées au manteau (Mikhailov et *al.* 1995). L'isolation des gonades représente ainsi une étape difficile à effectuer avec rigueur puisque sujette à contamination par d'autres tissus somatiques (e.g. intestins).

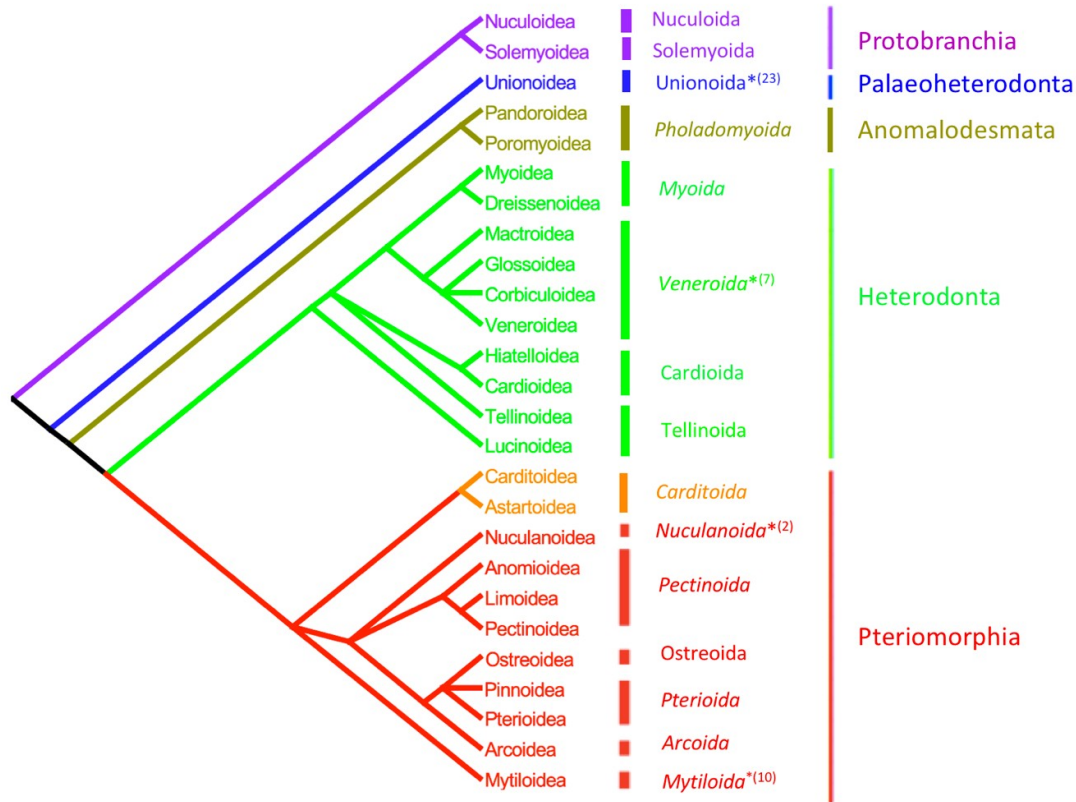


Figure 4. Relations phylogénétiques des bivalves selon Plazzi et al. (2011) basées sur une analyse bayésienne de 4 marqueurs mitochondriaux (*ARNr 12S*, *ARNr 16S*, *cox1*, *cytb*). De gauche à droite sont représentées les super-familles (-ea), ordres (-ida) et sous-classes (-a). Les astérisques indiquent les ordres pour lesquelles le système DUI a été détecté avec le nombre d'espèces associées entre parenthèses. Mise à part l'ordre des Nuculoida qui reste non étudié jusqu'à présent, chaque ordre a été testé pour la présence du système de double hérédité uniparentale. Figure tirée de Plazzi et *al.* 2011.

1.2.3. Distribution taxonomique du système DUI

Jusqu'à maintenant, le système DUI a été découvert chez plus d'une quarantaine d'espèces de bivalves (Theologidis et *al.* 2008; Dégletagne et *al.* 2016). Ces espèces sont réparties

dans 4 sous-classes (i.e. Palaeoheterodonta, Heterodonta, Pteriomorphia, Protobranchia), 4 ordres et 9 familles dont les moules marines (Mytiloida : Mytilidae) (Zouros et *al.* 1994a), les palourdes marines (Veneroida : Veneridae, Solenidae, Semelidae et Donacidae) (Theologidis et *al.* 2008), les moules d’eau douce (Unionoida : Unionidae, Margaritiferidae et Hydridae) (Hoeh et *al.* 2002 ; Mock et *al.* 2004), et les protobranches (Nuculanoida : Nuculanidae) (Boyle et Etter, 2013) (Voir Figure 4). Récemment, une équipe de chercheurs a pu observer une corrélation stricte entre la perte du système DUI et la présence d’hermaphrodisme (Breton et *al.* 2011a). Ce fut le premier élément suggérant que le DUI serait impliqué dans la détermination sexuelle ou du moins dans le maintien de sexes séparés.

La distribution sporadique du système DUI souligne, en partie, la difficulté d’illustrer sa présence. Basé sur le fait qu’il comprend deux lignées d’ADNmt distinctes avec une distribution tissulaire différente chez les mâles et les femelles, le système DUI devrait être facile à détecter. Actuellement en effet, la technique de détection du DUI la plus utilisée consiste simplement en l’amplification et le séquençage des deux génomes M et F des gonades et tissus somatiques chez des individus mâles (e.g. Plazzi et *al.* 2015 ; Dégletagne et *al.* 2016). Par contre, comme les deux génomes sont hautement divergents, les amorces d’ADN qui reconnaissent les séquences d’un génome peuvent très bien échouer à le faire pour l’autre (Zouros, 2013). À l’inverse, il est aussi possible que les deux génomes ne soient pas « assez » divergents dû à l’homogénéisation par recombinaison ou par le phénomène de « masculinisation » du génome femelle pour que l’on passe à côté de ce système. Les risques de faux négatifs sont donc à prendre en compte dans la détection du DUI. Pour lever toute incertitude sur la présence du DUI, une autre technique, plus coûteuse et plus compliquée, serait d’observer *in vivo* le comportement des mitochondries lors de la formation de l’embryon pour voir si celles-ci s’agrègent (mâles) ou non (femelles) dans un blastomère au stade 4 cellules comme c’est le cas chez les espèces avec DUI (Zouros, 2013; Dégletagne et *al.* 2016).

1.2.4. La question de l’origine du DUI

Approfondir notre connaissance de la distribution taxonomique du système DUI est avant

tout une priorité pour pouvoir s'attaquer à la question de son origine. Actuellement, deux théories s'opposent à ce propos, à savoir celle d'une origine unique suivie de la perte du système chez plusieurs lignées de bivalves et celle d'origines multiples et indépendantes (Zouros, 2013). Pour élucider cette question la phylogénie s'est imposée comme l'outil de réponse par excellence. Pour deux espèces avec la DUI, les 4 génomes mitochondriaux pourront se regrouper de trois différentes manières : (i) les deux génomes F pourraient former un taxon et les deux génomes M un autre distinct (patron genre-dépendant), (ii) les génomes M et F de chaque espèce pourraient former un taxon (patron espèce-dépendant), (iii) ou le regroupement pourrait être aléatoire (patron mixte) (Theologidis et *al.* 2008). Le premier patron est en accord avec une origine unique puisqu'il implique que la transmission du génome paternel aurait précédé la spéciation des deux espèces à l'inverse du patron espèce-dépendant qui soutient pour sa part des origines multiples (Theologidis et *al.* 2008).

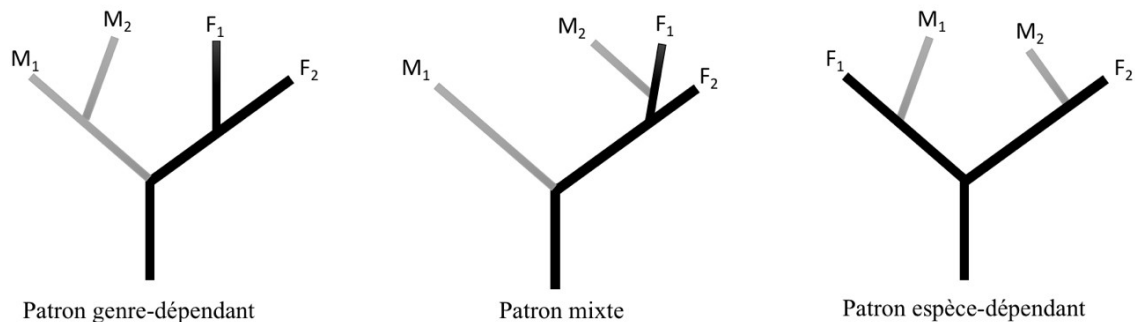


Figure 5. Les trois phylogénies possibles des génomes mitochondriaux mâles et femelles pour deux taxons. Figure tirée de Theologidis et *al.* 2008.

Les premières études réalisées à ce sujet ont illustré la présence de différents patrons phylogénétiques en fonction du groupe taxonomique concerné. À l'intérieur des moules marines (Mytilidae) on retrouve deux patrons différents, le patron genre-dépendant pour le complexe d'espèces *Mytilus* et le patron espèce-dépendant pour le reste des espèces présentes dans ce groupe. Chez les palourdes (Veneridae) et les protobranches

(Nuculanidae) c'est le patron espèce-dépendant qui domine alors que chez les moules d'eau douce il s'agit du patron genre-dépendant (Doucet-Beaupré et *al.* 2010; Theologidis et *al.* 2008 ; Boyle et Etter, 2013). D'après ces résultats l'origine unique ne peut s'expliquer que si elle est combinée avec la théorie de la « masculinisation » des génomes femelles (Zouros, 2013). En effet, en restaurant la divergence génétique à zéro entre les génomes mâles et femelles, ces deux derniers auront une distance évolutive biaisée tout comme le patron phylogénétique affiché (espèce-dépendant). Compte tenu de la singularité du système DUI, symbolisé par sa complexité moléculaire et métabolique, l'hypothèse d'une origine unique est aujourd'hui la plus favorisée. Si tel est le cas, il serait alors pertinent de déterminer quelle raison aurait entraîné la perte de la DUI dans certaines lignées de bivalves. L'hypothèse d'origines multiples est-elle en accord avec les phylogénies obtenues. Cependant, cela n'explique pas pourquoi seulement les espèces de moules d'eau douce ont une origine unique à la base de leur ordre. Les recherches récentes sur les ORFs surnuméraires trouvés dans les génomes mitochondriaux de ces espèces suggèrent une origine virale possible pour ces séquences (Milani et *al.* 2014). Si, comme le supposent certains auteurs, ces séquences jouent un rôle dans le maintien de la DUI, alors l'idée d'origines multiples deviendrait beaucoup plus plausible (Milani et *al.* 2014).

Tout comme pour la question entourant sa fonction, des recherches supplémentaires sur la distribution taxonomique du système DUI dans des familles où aucune investigation n'a encore été faite semblent indispensables afin de faire des inférences à propos de son origine, unique ou multiple. Aujourd'hui encore, nous ne savons pas si le système DUI est restreint au groupe des bivalves. Partir à sa recherche dans d'autres groupes de mollusques reviendrait à acheter un ticket de loterie : peu de chances pour une grande récompense, ce qui illustre parfaitement le principe même de la recherche scientifique.

1.3. Objectifs et hypothèses

L'objectif principal du projet est d'évaluer la distribution taxonomique du système DUI chez les mollusques, spécifiquement chez des groupes/familles pour lesquelles sa présence n'a jamais été testée. En corroborant nos résultats à une revue exhaustive de la littérature nous pourrions obtenir l'image la plus complète de la répartition de la DUI jusqu'à présent.

Avec seulement 40 espèces testées positives sur $\approx 25,000$ pour la présence de ce système, notre hypothèse nous conduit logiquement à penser que la DUI est beaucoup plus répandu que ce que l'on connaît pour le moment.

À cet objectif principal s'accorde un sous-objectif, à savoir déterminer si le système est apparu une seule fois ou à de multiples reprises au cours de l'évolution des bivalves. Étant donné l'unicité que représente la DUI, nous orientons notre hypothèse vers une origine unique associée à la naissance du groupe des bivalves. Si tel est le cas, le système DUI serait apparu il y a environ 530 millions d'années (Sharma et *al.* 2013).

Afin de répondre à ces deux objectifs, les marqueurs d'ADN mitochondriaux maternel et paternel (gènes *cox1* et *rrnL*) de 22 espèces de mollusques (extractions d'ADN de tissus somatiques et de gonades) ont été amplifiés par PCR, purifiés et séquencés à l'aide d'un séquenceur d'ADN automatique (Génome Québec). Différentes analyses phylogénétiques (bayésienne, parcimonie, vraisemblance) ont par la suite été utilisées pour tester les hypothèses concernant la ou les origines de la DUI. Ces données sont un prérequis indispensable pour une meilleure compréhension de la fonction du système DUI.

2. Article 1: No evidence of sex-linked heteroplasmy and doubly uniparental inheritance of mtDNA in five gastropod species

Article accepted in *Journal of Molluscan Studies: Oxford Press*

This submission is intended as Research Notes Arthur Gusman¹, Claudia Azuelos¹, Sophie Breton^{1,*}

¹*Department of Biological Sciences, Université de Montréal, 90 Avenue Vincent d'Indy, Montréal, Qc, Canada H2V 2S9*

***Corresponding author:** Sophie Breton, Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, QC H3C 3J7, Canada, 514-343-7460 (tel), Email: s.breton@umontreal.ca

2.1. Introduction

Mitochondria are organelles that contain their own genetic material (mitochondrial DNA or mtDNA), which is usually strictly maternally inherited in animals (Strict Maternal Inheritance or SMI) (Birky, 2001). One animal group diverges from the SMI rule, i.e. bivalve molluscs with their Doubly Uniparental Inheritance (DUI) system (see Breton *et al.* 2007; Ghiselli and Passamonti, 2009; Zouros, 2013 for reviews). DUI is an mtDNA inheritance system where females transmit their “F mtDNA” to all offspring, and males transmit their highly divergent “M mtDNA” to only their sons. Usually, females contain and express the F mtDNA in all their tissues, whereas males contain and express the F mtDNA in their soma, and the M mtDNA in their gametes (Breton *et al.* 2007; Passamonti and Ghiselli, 2009; Zouros, 2013). The levels of DNA divergence between F and M mtDNAs in male bivalves vary among species, with about 8% in the veneroid *Arctica islandica* (uncorrected nucleotide p-distance for *cytb*; Déglétagne *et al.* 2016) to >40% in freshwater mussels (uncorrected nucleotide p-distance for all protein-coding genes except *atp8*; Doucet-Beaupré *et al.* 2010), and these levels are often greater than the amount of divergence experimentally induced to impair the mitochondrial function in model systems for the study of mito-nuclear coevolution (Breton *et al.* 2007). Bivalves are thus unique in that they possess two very different sets of mt-encoded proteins “forced” to work in concert with proteins coded by a single nuclear genome. One of the leading hypotheses to explain the origin and maintenance of this unusual mtDNA transmission system in bivalves is that the F and M mtDNAs would be key elements of the sex determination system, as heteromorphic sex chromosomes are absent in this taxa (e.g. Breton *et al.* 2011; Breton *et al.* 2014; Breton and Stewart, 2015). However, the link between DUI and sex determination still remain to be elucidated.

So far, DUI has been found in 101 bivalve species belonging to the four orders Mytiloida, Nuculanoida, Unionoida and Veneroida, and to the 10 families (out of ~105; www.bivatol.org) Arcticidae, Donacidae, Hyriidae, Mactridae, Margaritiferidae, Mytilidae, Nuculanidae, Solenidae, Unionidae, Veneridae (Breton *et al.* 2007; Passamonti and Ghiselli, 2009; Doucet-Beaupré *et al.* 2010; Zouros, 2013; Boyle and Etter, 2013; Plazzi, 2015). DUI could also be present in other molluscan taxa (e.g. Parakatselaki *et al.*

2015), but this remains to be demonstrated. Recently, Parakatselaki et al. (2015) used these two main criteria, i.e. presence of gonochorism and sex bias, to investigate whether DUI exists outside bivalves, specifically in gastropods, the closest molluscan class to bivalves. Although their results suggested that the mtDNA in the common pet apple snail *Pomacea diffusa* is maternally transmitted, the authors proposed that their pipeline could be adopted for the search of DUI in other animals (Parakatselaki et al. 2015).

Following this proposed pipeline, we searched for DUI in five gonochoric gastropod species for which biases in sex ratio have been reported (i.e. the common periwinkle *Littorina littorea* [Lambert et al. 2012]; the common dogwhelk *Nucella lapillus* [Crothers, 1985]; the freshwater snail *Viviparus ater* [Brown et al. 1989]; the northern moonsnail *Lunatia heros* [biased sex ratios have been reported in the closely-related moonsnail species *Neverita lewisii* [Bernard, 1986]; and the limpet *Tectura testudinalis* [biased sex ratios have been reported in several limpet species; [Branch, 1981]] (Fig. 6).

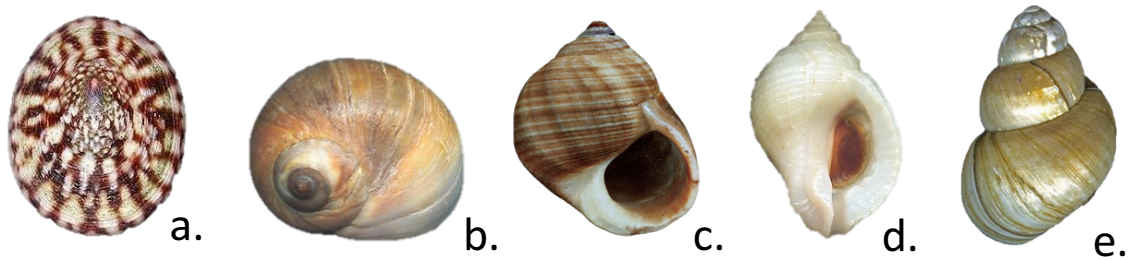


Figure 6. Gastropod species used in this study. (a) *Tectura testudinalis* (Patellogastropoda: Lottiidae) (b) *Lunatia heros* (Caenogastropoda: Naticidae) (c) *Littorina littorea* (Caenogastropoda: Littorinidae) (d) *Nucella lapillus* (Caenogastropoda: Muricidae) (e) *Viviparus ater* (Caenogastropoda: Viviparidae).

2.2. Materials & Methods

Littorina littorea, *Nucella lapillus* and *Tectura testudinalis* were collected in Rivière Madeleine (49.3028° N, 65.3812° W, Québec, Canada) and *Lunatia heros* in Carleton-sur-mer (48.1781° N, 66.1666° W, Québec, Canada) in 2012, 2013 and 2014. *Viviparus ater* was collected in Lac Saint-Pierre (46.2044° N, 72.8284° W, Québec, Canada) in 2013.

Specimens were either kept alive (*L. littorea*, *L. heros*, *N. lapillus* and *T. testudinalis*) or preserved in 95% ethanol (all species) until use.

Fresh or preserved specimens were sexed under the microscope, and four males and four females were used per species, except for *N. lapillus* and *L. heros* for which only three males and four females, and three males and two females were unambiguously sexed, respectively. For each individual, total genomic DNA was isolated from the foot and the gonad with the QIAGEN DNeasy tissue kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA) using the animal tissue protocol. Two mitochondrial regions were amplified: a 637-nt fragment from the protein-coding gene *cox1* using the primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al. 1994), and a ~580-nt fragment from the rRNA gene *16S* using the primers 16Sar and 16Sbr (Palumbi et al. 1991). PCR amplifications were performed in 50 µl volume containing ~20 ng of total DNA, 0.4 µM of each primer, 1X QIAGEN PCR Buffer, 2.5 mM MgCl₂, 200 µM of each dNTP, and 2.5 U QIAGEN Taq DNA polymerase (QIAGEN Inc.). The thermal cycling parameters were as follows: 5 min at 94 °C then 35 cycles of (94 °C for 15 s; 45 °C for 30 s; 72 °C for 60 s), with a final extension step of 10 min at 72 °C. The PCR products were purified using a QIAquick PCR purification kit according to supplier's (QIAGEN Inc.) instructions. The purified PCR products were sequenced at the Sequencing Platform of McGill University (Montréal, Canada). Sequences were aligned with ClustalW (Thompson et al. 2002). BLAST analyses (Altschul et al. 1990) confirmed the identifications at the species level.

2.3. Results/Discussion

As stated by Parakatselaki et al. (2015), two main features are expected from mtDNA sequences of species with DUI: (i) the divergence between sequences from male and female gonads should be higher than the divergence among sequences from gonads of the same sex, and (ii) distinct sequences should be found in somatic *versus* gonad tissues only in males. The authors did not observe these features in the common pet apple snail *Pomacea diffusa* after having sequenced three females and four males, the foot and the gonad provided identical sequences for each individual (Parakatselaki et al. 2015). Using

the same approach, i.e. with two sequences for each individual, one from the foot and one from the gonad, a total of 128 sequences were obtained for this study (Table II). As in *Pomacea diffusa* (Parakatselaki et al. 2015), we recovered the same haplotype from somatic and gonadal tissues for both mitochondrial regions in each gastropod species (Table II). Therefore, we must conclude that we do not have any evidence of sex-linked heteroplasmy in these five species. In some cases, however, different haplotypes were found in the population sampled (i.e. for *cox1* in *T. testudinalis* [2 nt different between both haplotypes] and for *16S* in *L. littorea* [1 nt different between both haplotypes] and *N. lapillus* [3 nt different between both haplotypes]), but none of our individual was heteroplasmic, meaning that the sequences obtained for each gene/tissue were identical, and different haplotypes were also found in females and males. Although further work trying to unveil rare heteroplasmic variants by molecular cloning could strengthen our results, all the sequences obtained for each gene/tissue/sex/species were identical and no double peaks were observed in the chromatograms, suggesting the absence of heteroplasmy in the tissues tested (Table II).

Theoretically, the absence of DUI in a species can be unambiguously demonstrated when (i) the mtDNAs from uncontaminated collection of eggs and sperm from several individuals are shown to be the same, and (ii) when newly fertilized eggs from several females are all shown to have dispersed pattern of sperm mitochondria in blastomeres. Indeed, in species with DUI, sperm mitochondria are dispersed in blastomeres only in female embryos, whereas in male embryos, sperm mitochondria remain grouped together in a single blastomere that will give rise to the germline (Cao et al. 2004; Milani et al. 2012). In practice, most studies used PCR-based analyses to prove or refute the presence of DUI by respectively showing the consistent coexistence of distinct mtDNA forms only in males (and only in male gonads versus male somatic and female tissues) or not (e.g. Parakatselaki et al. 2015; Plazzi, 2015; Plazzi et al. 2015; Vargas et al. 2015; Dégletagne et al. 2016). While the presence of DUI is relatively easy to prove using this approach, e.g. occasional heteroplasmy in species with maternal inheritance of mtDNA is typically present in one or several tissues in a non-consistent way and in both sexes, the absence of DUI is much more difficult to establish for at least two reasons: (i) the possible preferential annealing of the PCR primers with only the maternal mtDNA (e.g. Saavedra et al. 1997;

Theologidis et al., 2007), and (ii) the possibility that the paternal mtDNA would be indistinguishable from the maternal mtDNA because of an invasion of the paternal transmission route by the latter, which would therefore be inherited through the sperm (Zouros, 2013). In the first case, the problem can be overcome by targeting more than one mitochondrial region/gene and by using several pairs of primers designed in conserved mtDNA regions to be able to amplify these regions from both closely- and distantly-related organisms, thus decreasing considerably the probability that the paternal genome will be missed (Parakatselaki et al. 2015). This approach has been used in the present study. Regarding the second situation, which has been called a masculinization event after its discovery in marine mussels *Mytilus* spp., we agree with Parakatselaki et al. (2015) that this possibility is extremely low because the phenomenon is very rare (Ladoukakis et al. 2002) and the probability that it happened in our five gastropod species is almost null. Additionally, masculinized mt genomes in sperm are usually quite different (3% DNA divergence, evolutionary distances [Tamura-Nei model] for *cox1*) from the mtDNA present in somatic tissues (Hoeh et al. 1996, 1997). In our study, the sequences recovered from the gonadal and somatic tissues were all identical, suggesting an absence of DUI.

Table II. Number of DNA sequences for each species and each mitochondrial gene. Two sequences were obtained for each individual (from foot and gonad tissues). Number of individuals is indicated in parentheses. For *V. ater*, it was only possible to sequence the *16S* fragment since *cox1* could not be amplified. Male and female haplotypes are counted together.

Species	Number of sequences				Haplotypes			
	<i>cox1</i>		<i>16S</i>		<i>cox1</i>		<i>16S</i>	
	Female	Male	Female	Male	N	GenBank IDs	N	GenBank IDs
<i>Littorina littorea</i>	8(4)	8(4)	8(4)	8(4)	1	KX139424	2	KX139425-6
<i>Lunatia heros</i>	4(2)	6(3)	4(2)	6(3)	1	KX139434	1	KX139435
<i>Nucella lapillus</i>	8(4)	6(3)	8(4)	6(3)	1	KX139430	2	KX139431-2
<i>Tectura testudinalis</i>	8(4)	8(4)	8(4)	8(4)	2	KX139427-8	1	KX139429
<i>Viviparus ater</i>	-	-	8(4)	8(4)	-	-	1	KX139433

DUI has been hypothesized to be involved in sex determination, explaining its long-term persistence in bivalves, as heteromorphic sex chromosomes are absent in these taxa (e.g. Breton et al. 2011; Breton et al. 2014; Breton and Stewart, 2015). If this hypothesis is true, then the occurrence of sex chromosomes in gastropods (reviewed in Thiriot-Quiévreux, 2003) could explain the absence of DUI in this group. To our knowledge, the presence of sex chromosomes has been confirmed in *Littorina* spp. and *Viviparus ater* (Thiriot-Quiévreux, 2003).

Otherwise, all DUI species for which the complete F and M mitochondrial genomes have been sequenced possess at least one of these features: (i) additional sex-specific, functional open reading frames (ORFs) in the F and M mtDNAs (e.g. Breton et al. 2011; Milani et al. 2013; Milani et al. 2014; Minoiu et al. 2016), (ii) a duplication or an extension of the *cox2* gene (Doucet-Beaupré et al. 2010; Passamonti et al. 2011; Bettinazzi et al. 2016), and/or (iii) a highly modified version of the *atp8* gene (e.g. Breton et al. 2010), which does not possess the MPQL amino acid signature conserved at the N-terminus of metazoan *ATP8* (Gissi et al. 2008). To our knowledge, mitochondrial genomes in gastropods are all of relatively reduced size (13-15 kb) with only one exception, *Lottia digitalis*, which possesses 2 large non-coding regions and an mtDNA of 26 kb (Grande et al. 2008; White et al. 2011), and they all consist of 13 protein-coding genes, without additional ORFs, duplicated genes or gene extension, and with a “typical” *ATP8* protein (Grande et al. 2008; White et al. 2011). If for some reasons the deviations observed in bivalve mtDNAs are a consequence of DUI, then maybe these features should be taken into account when searching for DUI in other animals. Such studies are underway in our laboratory.

Given the impossibility to demonstrate sex-linked heteroplasmy in some gastropod species so far, currently there is no evidence for DUI in this class and we therefore must keep considering this unusual phenomenon as restricted to bivalves.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Amélie Genovese, Antonia Cattaneo and Christiane Hudon for providing us with samples. We would also like to thank three anonymous reviewers for

insightful comments on the manuscript. This work was supported by the National Sciences and Engineering Research Council (NSERC) (grant no RGPIN/435656-2013 to S.B.). Arthur Gusman was financially supported by the Groupe de Recherche Interuniversitaire en Limnologie et en environnement aquatique (GRIL).

3. Article 2: Pursuing the quest for a better understanding the taxonomic distribution of the system of doubly uniparental inheritance of mtDNA

Article submitted in *PeerJ*

This submission is intended as a research article

Arthur Gusman¹, Sophia Lecomte², Donald T. Stewart³, Marco Passamonti⁴, Sophie Breton^{1,*}

¹Department of Biological Sciences, Université de Montréal, 90 Avenue Vincent d'Indy, Montréal, Qc, Canada H2V 2S9

²Department of Biological Sciences, Université de Strasbourg, 4 rue Blaise Pascal, 67081, Strasbourg, France

³Department of Biology, Acadia University, Wolfville, NS B4P 2R6 Canada

⁴Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, University of Bologna, Via Selmi 3, 40126, Bologna, Italy

***Corresponding author:** Sophie Breton, Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, QC H3C 3J7, Canada, 514-343-7460 (tel), Email: s.breton@umontreal.ca

3.1. Abstract

There is only one known exception to strict maternal inheritance of mitochondrial DNA (mtDNA) in the animal kingdom: a system named doubly uniparental inheritance (DUI), which is found in several bivalve species. Why and how such a radically different system of mitochondrial transmission evolved in bivalve remains obscure. Obtaining a more complete taxonomic distribution of DUI in the Bivalvia may help to better understand its origin and function. We tested for the presence of DUI in four bivalve species and observed sex-linked heteroplasmy (thus the possible presence of DUI) in two of them, i.e. the nuculanoid *Yoldia hyperborea* (Gould, 1841) and the veneroid *Scrobicularia plana* (Da Costa, 1778), increasing the number of families in which DUI has been found by two. An update on the taxonomic distribution of DUI in the Bivalvia is also presented.

3.2. Introduction

Strict maternal inheritance (SMI) is considered to be the paradigm for mitochondrial DNA (mtDNA) transmission in animal species (Birky, 2001). One exception is found in bivalve molluscs, which possess a unique mode of mtDNA transmission named doubly uniparental inheritance (DUI) (Hoeh and Blakley, 1991; Skibinski et al. 1994; Zouros et al. 1994a; Zouros et al. 1994b). DUI is characterized by the presence of two distinct sex-associated mitochondrial lineages: the female type (F mtDNA), which is transmitted through the eggs to all offspring, and the male type (M mtDNA) which is present in sperm, enters all eggs at the time of fertilization, but is only retained and transmitted through male offspring. In adults, the F-type mtDNA is predominant in all tissues of both sexes, except in the male gonad where the M-type mtDNA prevails; although some exceptions have been documented, adult females are essentially homoplasmic and adult males are heteroplasmic (reviewed in Breton et al. 2007; Passamonti and Ghiselli, 2009; Zouros, 2013). The stability of this system of heredity across evolutionary time in several orders of bivalves has produced highly divergent F and M mtDNAs: the mean nucleotide difference between both genomes is around 20% in many marine taxa (orders Mytiloida and Veneroida) and can reach >50% in freshwater mussels (order Unionoida) (Breton et al. 2007; Doucet-

beaupré et *al.* 2010). Although some major features of DUI are quite well known – for example species with DUI show strong sex biases in offspring towards one or the other sex following parental crosses (e.g. Kenchington et *al.* 2002; Kenchington et *al.* 2009), both F and M lineages show rapid molecular evolution compared to other animals, the M mtDNA usually evolves faster than the F mtDNA, M mitochondria show sex-specific behavior in newly formed zygotes, and novel mtDNA-encoded protein-coding genes have been found in species with DUI (Breton et *al.* 2007; Passamonti and Ghiselli, 2009; Zouros, 2013; Breton et *al.* 2014) – the main function of this peculiar system of mtDNA transmission still remains undetermined. Sustained by the correlation between DUI and gonochorism (and the absence of DUI and hermaphroditism), one main hypothesis suggests a link between this model of heredity and the maintenance of separate sexes (Breton et *al.* 2011).

During the last decade, DUI has been described as a phenomenon that occurs in approximately 40 bivalve species (e.g. Walker et *al.* 2006; Theologidis et *al.* 2008; Doucet-Beaupré et *al.* 2010; Déglétagne et *al.* 2016). Considering the great deal of new literature on DUI that has been published in the last few years, the number of species with DUI must be updated. Moreover, with ~25,000 species of bivalves (www.bivatol.org), DUI is likely very widespread in this class and it might be found in other molluscan groups as well (e.g. Parakatselaki et *al.* 2015). A broad mitochondrial survey of bivalves and other mollusc species is crucial to gauge the prevalence of DUI across molluscs and to evaluate its origin. To date, the vast majority of species with DUI that have been reported belong to the bivalve order Unionoida (families Hyriidae, Magaritiferidae, Unionidae) mostly because the PCR-based method used to detect DUI in this group, which is based on amplifying the *cox2* extension specific to unionoid male mtDNAs (Curole and Kocher, 2002), is simple and effective (Walker et *al.* 2006). The other groups in which species with DUI have been found are the orders Mytiloida (family Mytilidae) (Hoeh et *al.* 1991; Skibinski et *al.* 1994; Zouros et *al.* 1994a; Zouros et *al.* 1994b), Veneroida (families Arcticidae, Donacidae, Mactridae, Solenidae, Veneridae) (Theologidis et *al.* 2008; Plazzi, 2015; Déglétagne et *al.* 2016), and Nuculanoida (family Nuculanidae), an order belonging to the most basal protobranch bivalve lineage (Boyle and Etter, 2013). It is still unsettled whether DUI has a single origin followed by its loss in several bivalve lineages or whether it has multiple and independent origins (Hoeh et *al.* 1996; Theologidis et *al.* 2008; Zouros, 2013; Milani et *al.* 2014). To

disentangle these two possibilities, we must expand taxonomic sampling in a comprehensive manner.

The detection of DUI can be made by illustrating the presence of heteroplasmy in a male individual, specifically by retrieving different mitochondrial haplotypes from the male gonad and somatic tissues (the haplotype from male somatic tissues should be identical or more similar to the haplotype observed in female gonad and somatic tissues). Such an approach has already been successfully implemented in several previous DUI studies (e.g. Passamonti and Scali, 2001; Theologidis et al. 2008; Boyle and Etter, 2013; Plazzi et al. 2014; Plazzi, 2015; Vargas et al. 2015; Dégletagne et al. 2016). In the present study, we use this approach to test for the presence of DUI in four bivalve species and we observe sex-linked heteroplasmy (thus the possible presence of DUI) in two of them, i.e. the nuculanoid *Yoldia hyperborea* (Gould, 1841) and the veneroid *Scrobicularia plana* (Da Costa, 1778), increasing the number of families in which DUI has been found by two. An update on the taxonomic distribution of DUI in the Bivalvia is also presented.

3.3. Materials and Methods

3.3.1. Specimen's collection

Mature specimens of *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758), *Musculus discors* (Linnaeus, 1758) and *Yoldia hyperborea* (Gould, 1841) were collected in the Baffin Sea (76°20'50 N, 77°35'86 W) in august 2013. *Scrobicularia plana* (da Costa, 1778) samples were directly sent from the French National Museum of Natural History to our laboratory. All specimens were conserved in 95% ethanol. To identify sex-biased heteroplasmy, each individual was sexed by inspecting the gonads under a light microscope (100X) for the presence of eggs or sperm, and only individuals unambiguously sexed were kept for the present study. Dissections were carried on each individual to obtain somatic tissues (i.e. gills) and female or male gonad for DNA extractions (see below). The number of specimens analyzed for each species were as follows: 3 males and 3 females for *C. edule*, 7 males and 7 females for both *S. plana* and *Y. hyperborea*, and 3 males and 8 females for *M. discors*.

3.3.2. DNA extraction, Polymerase Chain Reaction Amplification and Sequencing

Total genomic DNA was extracted separately from gonad tissue and from gill tissue with a Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA) using the animal tissue protocol. The quality and quantity of DNA, respectively, were assessed by electrophoresis on 1% agarose gels and with a BioDrop μ LITE spectrophotometer. Before PCR amplifications, all samples were treated using OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit (Zymo Research, Irvine, CA) according to the manufacturer's protocol. For all species, partial sequence amplification of cytochrome oxidase subunit 1 (*cox1*) and large subunit ribosomal RNA (*rrnL* or *16S*) were carried out in 50 μ l volumes comprising 5.0 μ l 10X Taq buffer, 1.0 μ l dNTP mix (10mM), 2.0 μ l of each forward and reverse primer [10 μ M; LCO1490 and HCO2198 for *cox1* (Folmer et al. 1994), and 16Sar and 16Sbr for *rrnL* (Palumbi et al. 1991)], 0.25 μ l Taq DNA Polymerase (5U/ μ l; Bio Basic Inc. Markham, Ontario), 2 μ l of DNA extract (100 ng/ μ l), and ddH₂O up to 50 μ l. Reactions were performed on a TProfessional Basic Thermocycler with the following PCR amplification conditions: initial denaturation at 95°C for 2 min, followed by 35 cycles of 95°C for 20 sec, 44°C for 40 sec and 72°C for 40 sec, followed by a final extension step at 72°C for 5 min. Resulting PCR products were visualized on 1% agarose gels under UV light with SYBR green dye (Life Technologies), and purified with the Qiagen QIAquick PCR Purification Kit according to the manufacturer's protocol. The purified PCR products were sequenced at the Genome Quebec Innovation Centre (McGill University), using the Applied Biosystem's 3730xl DNA Analyzer technology.

3.3.3. DNA Cloning and Sequencing

Examination of chromatograms revealed the presence of multiple sequencing peaks only in male gonad tissues of *S. plana* and *Y. hyperborea*, suggesting co-amplification of two different mtDNA types. The amplified products of male gonads for these two species were thus cloned using the PGEM-T Easy vector (Promega, Madison, WI) to confirm the presence of F and M genomes. Recombinant clones were sent to the Genome Quebec Innovation Centre to be sequenced on both strands using the primers pUC20 (5'-GTTTTCCCAGTCACGAC-3') and pUC2 (5'-GAGCGGATAACAATTTTCAC-3').

3.3.4. Sequence Analysis

Cox1 and *rrnL* sequences were edited and aligned using MEGA 6 (version6.06; Tamura et al. 2013). Amino acid sequences were deduced using the invertebrate mitochondrial genetic code. Calculations of nucleotide and amino acid *p*-distances for both *cox1* and *rrnL* were performed with MEGA 6 (with 1000 bootstrap replicates) (version6.06; Tamura et al. 2013).

Following a similar approach than Dégletagne et al. (2016) to look for the presence of two intraspecific “F and M” clades in *S. plana* and *Y. hyperborea*, maximum likelihood (using RAxML version 8.2.8; Stamakis, 2014) with bootstrap analyses (1,000 replicates) and Bayesian phylogenies (using MrBayes v3.2.6; Huelsenbeck and Ronquist, 2001, 2005; Ronquist et al. 2012) were performed on *cox1* nucleotide sequences of both species with *Soletellina virescens* (Bivalvia, Veneridae, Genbank accession number: JN859944) and *Yoldia eightsii* (Bivalvia, Nuculanida, Genbank accession number: KJ571167) as outgroups for *S. plana* and *Y. hyperborea*, respectively (i.e. closest sequences according to BLAST search). Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwartz, 1978) implemented in PartitionFinder (v1.1.1; Lanfear et al. 2012) was used to estimate the best-fitting models of evolution. Figtree (v1.4.2; Morariu et al. 2008) was used to edit the phylogenetic trees.

Given that evidence of DUI was detected (i.e. two distinct, intraspecific putative M and F mtDNA genomes) only for *S. plana* and *Y. hyperborea* (see Results and Discussion below), only these two species were included in our expanded phylogenetic analyses designed to verify molecular relationships among DUI species in general. Maximum likelihood (ML), maximum parsimony (MP) and Bayesian phylogenies were thus performed on F and M *cox1* nucleotide and amino acid sequences from all DUI species known to date and *Octopus vulgaris* (Mollusca: Octopoda) and *Aplysia californica* (Mollusca: Gastropoda) were used as outgroup taxa. F and M *cox1* sequences other than those obtained in the present study for *S. plana* and *Y. hyperborea* were retrieved from Genbank; the complete phylogenetic dataset is shown in Table III. *Cox1* sequences were aligned using MEGA 6 (version6.06; Tamura et al. 2013) and the best-fitting models of DNA evolution were selected using PartitionFinder (v1.1.1; Lanfear et al. 2012) according to BIC values (Schwartz, 1978). Best models were applied whenever possible. Data were

partitioned according to nucleotide position and gaps were treated as missing data.

ML analyses were conducted with RAxML (version 8.2.8; Stamatakis, 2014). A non-parametric bootstrap (Felsenstein, 1985) analysis was performed, using 1000 bootstrap replicates and 20 ML searches, to assess nodal support for both trees. Outgroups were set to be paraphyletic to the monophyletic ingroup. MP analyses were carried out using PAUP software (v 4.0a147; Swofford, 2001). To optimize the chance of having the best topology, 100 random stepwise additions under tree-bisection reconnection branch swapping were applied (Bogan and Hoeh, 2000). Reliability of the internal nodes was evaluated by 1000 pseudoreplicates using the heuristic search algorithm. Bayesian analyses were conducted using MrBayes (v3.2.6; Huelsenbeck and Ronquist, 2001, 2005; Ronquist et al. 2012). Each analysis consisted of two independent runs of 4 MC³ chains that were run for 10 000 000 generations. Convergence was estimated through the log likelihood value of trees, potential scale reduction factor (PSRF) and standard deviation of average split frequencies sampled every 1000 generations (Gelman and Rubin, 1992). Trees were sampled every 100 generations and a majority-rule consensus tree was computed after discarding the first 25% as burn-in. Fidelity of the topology was evaluated with the posterior probabilities from the consensus tree. All phylogenetic trees were edited for easier readability using FigTree (v1.4.2; Morariu et al. 2008).

Table III. Complete phylogenetic dataset used for phylogenetic reconstruction. GenBank accession numbers of sequences are listed in the last two columns. Sequences obtained for the present study are indicated in bold while others were retrieved from GenBank.

Species	Authority	M <i>coxI</i>	F <i>coxI</i>
<i>Actinonaias ligamentina</i>	(Lamarck, 1819)	AF406796	AF231730
<i>Amblema plicata</i>	(Say, 1817)	EF033295	EF033258
<i>Anodonta californiensis</i>	(Lea, 1852)	AY493507	AY493462
<i>Anodonta oregonensis</i>	(Lea, 1838)	AY493504	AY493480
<i>Anodonta wahlamatensis</i>	(Lea, 1838)	AY493493	AY493467
<i>Anodonta woodiana</i>	(Lea, 1834)	EF440350	HQ283346
<i>Aplysia californica</i>	(Cooper, 1863)	N/A	NC005827
<i>Brachidontes exustus</i>	(Linnaeus, 1758)	AY621946	NC024882

<i>Brachidontes pharaonis</i>	(Fischer, 1870)	DQ836012	DQ836013
<i>Brachidontes variabilis</i>	(Krauss 1848)	DQ836020	DQ836019
<i>Cumberlandia monodonta</i>	(Say, 1829)	AY785397	KF647529
<i>Cyrtornaias tampicoensis</i>	(Lea, 1838)	EF033299	EF033259
<i>Fusconaia flava</i>	(Rafinesque, 1820)	EF033307	EF033261
<i>Glebula rotundata</i>	(Lamarck, 1819)	EF033304	EF033264
<i>Graptacme eborea</i>	(Conrad, 1846)	N/A	AY260825
<i>Hamiota subangulata</i>	(Lea, 1840)	EF033305	EF033266
<i>Echyridella menziesii</i>	(Gray, 1843)	AF406802	AF231747
<i>Hyriopsis cumingii</i>	(Lea, 1852)	KC150028	HM347668
<i>Unio japonensis</i>	(Lea, 1859)	AB055624	AB055625
<i>Lamprotula leai</i>	(Griffith, 1833)	KC847114	JQ691662
<i>Lamprotula tortuosa</i>	(Lea, 1865)	KC441487	KC109779
<i>Lampsilis hydiana</i>	(Lea, 1838)	EF033298	EF033270
<i>Lampsilis ovata</i>	(Say, 1817)	EF033303	EF033262
<i>Lampsilis siliquoidea</i>	(Barnes, 1823)	KC408795	KC408768
<i>Lampsilis straminea</i>	(Conrad, 1834)	EF033297	EF033271
<i>Lampsilis teres</i>	(Rafinesque, 1820)	AF406794	KT285644
<i>Lemiox rimosus</i>	(Rafinesque, 1831)	EF033302	EF033256
<i>Ligumia recta</i>	(Lamarck, 1819)	AF406795	KC291717
<i>Margaritifera margaritifera</i>	(Linnaeus, 1758)	AY785399	KC429108
<i>Meretrix Lamarckii</i>	(Deshayes, 1853)	KP244452	KP244451
<i>Musculista senhousia</i>	(Benson, 1842)	AY570050	AY570041
<i>Mytella charuana</i>	(Soot-Ryen, 1955)	JQ685159	JQ685156
<i>Mytilus californianus</i>	(Conrad, 1837)	JX486123	JX486124
<i>Mytilus edulis</i>	(Linnaeus, 1758)	AY484747	HM489873
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	(Lamarck, 1819)	AY363687	AY497292
<i>Mytilus trossulus</i>	(Gould, 1850)	GQ438250	AY823625
<i>Obliquaria reflexa</i>	(Rafinesque, 1820)	EF033292	EF033254
<i>Obovaria olivaria</i>	(Rafinesque, 1820)	EF033306	EF033267
<i>Octopus vulgaris</i>	(Cuvier, 1797)	N/A	AB191269
<i>Plectomerus dombeyanus</i>	(Valenciennes, 1827)	EF033290	EF033252
<i>Pleurobema sintoxia</i>	(Rafinesque, 1820)	EF033291	EF033253
<i>Popenaias popeii</i>	(Lea, 1857)	EF033294	EF033257
<i>Potamilus purpuratus</i>	(Lamarck, 1819)	AF406797	AF406804
<i>Pseudocardium sachalinense</i>	(Schrenck, 1862)	KJ650517	KJ650515
<i>Ptychobranchus fasciolaris</i>	(Rafinesque, 1820)	EF033301	EF033265
<i>Pvganodon fragilis</i>	(Lamarck, 1819)	AF406800	AF406805
<i>Pvganodon grandis</i>	(Sav. 1829)	FJ809755	FJ809754
<i>Quadrula quadrula</i>	(Rafinesque, 1820)	FJ809751	FJ809750

<i>Quadrula refulgens</i>	(Lea, 1868)	EF033309	EF033269
<i>Scrobicularia plana</i>	(Da Costa, 1778)	KX447424	KX447420
<i>Solenia carinatus</i>	(Heude, 1877)	KC848655	KC848654
<i>Toxolasma glans</i>	(Lea, 1840)	EF033293	EF033255
<i>Unio crassus</i>	(Philipson, 1788)	EU548052	KJ525915
<i>Unio pictorum</i>	(Linnaeus, 1758)	EU548055	HM014133
<i>Unio tumidus</i>	(Philipson, 1788)	EU548054	KC703957
<i>Utterbackia peninsularis</i>	(Bogan & Hoeh, 1995)	HM856635	HM856636
<i>Venerupis philippinarum</i>	(Adams, 1850)	AB065374	AB065375
<i>Venustaconcha ellipsiformis</i>	(Conrad, 1836)	FJ809752	FJ809753
<i>Yoldia hyperborea</i>	(Gould, 1841)	KX447428	KX447425

3.4. Results

3.4.1. Genetic distances

For this study, 4 new species were tested for the presence of DUI and a total number of 77 sequences were obtained: the number of sequences and haplotypes for each species and for each marker are listed in Table IV. Different haplotypes were found for *C. edule* (*rrnL*), *M. discors* (*rrnL*), *S. plana* (*coxI*) and *Y. hyperborea* (*coxI*) (Table IV). All mtDNA sequences are available via GenBank under accession numbers KX44710-28. In *C. edule* cases, we were able to amplify both *rrnL* and *coxI* genes, while for the other species only one could be amplified. Number of haplotypes indicated regroup both F and M types. Sequences with the same haplotype were deposited only once.

Intragroups (female and male) and intergroups (female versus male) nucleotide and amino acid *p*-distances are shown for each species in Table SI and SII. For *C. edule* and *M. discors*, the *p*-distances between female and male sequences are always intermediate to the within group *p*-distances. However, a different situation is observed for *Y. hyperborea* and *S. plana*, in which between groups *p*-distances are significantly higher than within group *p*-distances. Specifically, for *Y. hyperborea coxI* sequences, intragroup *p*-distances are low, i.e. 0.0014 for female sequences and 0.0000 for male sequences, with standard errors of ± 0.0008 and ± 0.0000 , respectively, whereas the between group *p*-distance is significantly higher with a value of 0.0596 ± 0.0079 (amino acid *p*-distance is 0.0454

± 0.0124). The same observation can be made for *S. plana cox1* sequences: within group *p*-distances are 0.0067 ± 0.0034 and 0.0020 ± 0.0014 , for female and male sequences respectively, whereas the between group *p*-distance value is 0.0965 ± 0.0074 (amino acid *p*-distance is 0.0659 ± 0.0100).

Table IV. Number of sequences obtained for each mitochondrial genes and species. Genbank accession numbers are listed. Gi: Gills; Go: Gonads.

Species	Sequences				Haplotypes			
	<i>cox1</i>		<i>rrnL</i>		<i>cox1</i>		<i>rrnL</i>	
	Female	Male	Female	Male	Count	Genbank IDs	Count	Genbank IDs
	Gi/Go	Gi/Go	Gi/Go	Gi/Go				
<i>Cerastoderma edule</i>	2/1	0/3	3/2	3/2	1	KX447419	3	KX447410-12
<i>Musculus discors</i>	0	0	4/7	1/3	n/a	n/a	6	KX447413-18
<i>Scrobicularia plana</i>	3/3	5/6	0	0	5	KX447420-24	n/a	n/a
<i>Yoldia hyperborea</i>	7/4	7/7	0	0	4	KX447425-28	n/a	n/a

3.4.2. Phylogenetic analyses for *Scrobicularia plana* and *Yoldia hyperborea*

Phylogenetic analyses of partially sequenced *S. plana cox1* and *Y. hyperborea cox1* sequences were conducted using the HKY + G model (Hasegawa et al. 1985). Based on high bootstraps and posterior probability values, female and male haplotypes were clustered into two well-separated and well-supported clades in both species (Supplementary Figures S3 and S4).

3.4.3. Taxonomic distribution of DUI

Genetic distances and phylogenetic analyses provide evidence for sex-associated mitochondrial heteroplasmy in *Scrobicularia plana* (Bivalvia: Semelidae) and *Yoldia hyperborea* (Bivalvia: Yoldiidae), raising the total of bivalve families in which DUI has been discovered to 12 (Hoeh et al. 2002; Theologidis et al. 2008; Boyle and Etter, 2013;

Plazzi, 2015; Dégletagne et al. 2016). We also report apparent absence of DUI in two species (*C. edule* and *M. Discors*); nucleotide sequences from gonadal and somatic tissues were identical both in females and males and we did not notice any correlation between tissue type and unsuccessful amplifications. Even with those data, however, confirming the absence of DUI remains difficult (see Discussion). The list of the 103 bivalve species in which DUI has been found to date is presented in Table V. Evidence for DUI is reported in the literature for 96 species (and for 2 species in the present study). For the other five species, the evidence is based on sequences derived from male and female gonads and retrieved from GenBank (Okazaki, M., Shikatani, M., Nishida, M., & Ueshima, R., unpublished data). These sequences all show strong nucleotide divergence between mitochondrial gene sequences obtained from male and female individuals, with F to M type *p*-distances ranging from 10% to 30%.

Table V. The complete list of species with DUI known to date. The taxonomic affiliation is made according to Giribet and Wheeler (2002). Information about the presence of DUI was done according to the references listed in the last column. Data from GenBank; accession numbers: *L. grayana*: AB040829-30, *S. grandis*: AB064983-5, *D. faba* and *D. cuneatus*: AB040481_45, *C. sinensis*: AB040833.

Superfamily/Family	Species	References
Unionoidea/Unionidae	<i>Actinonaias ligamentina</i>	Hoeh et al. (2002)
	<i>Amblema plicata</i>	Curole and Kocher (2005)
	<i>Anodonta anatina</i>	Soroka (2008) ¹
	<i>Anodonta arcaeformis</i>	Soroka (2010)
	<i>Anodonta californensis</i>	Mock et al. (2004)
	<i>Anodonta implicata</i>	Curole and Kocher (2002)
	<i>Anodonta oregonensis</i>	Mock et al. (2004)
	<i>Anodonta wahlamatisensis</i>	Mock et al. (2004)
	<i>Anodonta woodiana</i>	Soroka (2005) ²
	<i>Cyprogenia alberti</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Cyrtonaias tampicoensis</i>	Hoeh et al. (2002)
	<i>Dromus dromas</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Ellipsaria lineolata</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Elliptio dilitata</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Epioblasma brevidens</i>	Walker et al. (2006)

<i>Glebula rotundata</i>	Curole and Kocher (2005)
<i>Gonidea angulata</i>	Walker et al. (2006)
<i>Hamiota subangulata</i>	Chapman et al. (2008)
<i>Hyriopsis cumingii</i>	Wang et al. (2015) ²
<i>Hyriopsis schlegelii</i>	Lin et al. (2015)
<i>Inversidens japanensis</i>	Okazaki and Ueshima (2001)
<i>Lamprotula leai</i>	Wang et al. (2015) ¹
<i>Lamprotula tortuosa</i>	Wang et al. (2013)
<i>Potamilus purpuratus</i>	Hoeh et al. (2002)
<i>Lampsilis cardium</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis hydiana</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis ovata</i>	Chapman et al. (2008)
<i>Lampsilis powellii</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis reeveiana</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis siliquoidea</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis streckeri</i>	Walker et al. (2006)
<i>Lampsilis straminea</i>	Curole and Kocher (2002)
<i>Lampsilis teres</i>	Hoeh et al. (2002)
<i>Lanceolaria grayana</i>	Genbank
<i>Lasmigona complanata</i>	Stewart et al. (2013)
<i>Lasmigona costata</i>	Stewart et al. (2013)
<i>Lemiox rimosus</i>	Chapman et al. (2008)
<i>Leptodea fragilis</i>	Walker et al. (2006)
<i>Leptodea leptodon</i>	Walker et al. (2006)
<i>Ligumia recta</i>	Hoeh et al. (2002)
<i>Margaritifera marrianae</i>	Stewart et al. (2013)
<i>Medionidus conradicus</i>	Walker et al. (2006)
<i>Obliquaria reflexa</i>	Chapman et al. (2008)
<i>Obovaria olivaria</i>	Walker et al. (2006)
<i>Plectomerus dombeyanus</i>	Curole and Kocher (2005)
<i>Pleurobema sintoxia</i>	Chapman et al. (2008)
<i>Popenaias popeii</i>	Walker et al. (2006)
<i>Potamilus alatus</i>	Walker et al. (2006)
<i>Potamilus capax</i>	Walker et al. (2006)
<i>Potamilus ohioensis</i>	Walker et al. (2006)
<i>Pseudodon vondembuschianus</i>	Walker et al. (2006)
<i>Ptychobranchus fasciolarie</i>	Walker et al. (2006)
<i>Pyganodon fragilis</i>	Hoeh et al. (1996)
<i>Pyganodon grandis</i>	Hoeh et al. (1996)

	<i>Fusconaia flava</i>	Hoeh et al. (1996)
	<i>Quadrula quadrula</i>	Curole and Kocher (2002)
	<i>Quadrula refulgens</i>	Curole and Kocher (2002)
	<i>Solenia carinatus</i>	Huang et al. (2013)
	<i>Strophitus undulatus</i>	Stewart et al. (2013)
	<i>Toxolasma glans</i>	Stewart et al. (2013)
	<i>Toxolasma lividus</i>	Stewart et al. (2013)
	<i>Toxolasma minor</i>	Stewart et al. (2013)
	<i>Toxolasma paulus</i>	Stewart et al. (2013)
	<i>Truncilla truncate</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Unio crassus</i>	Soroka (2010)
	<i>Unio delphinus</i>	Machordom et al. (2015)
	<i>Unio pictorum</i>	Soroka (2010)
	<i>Unio tumidus</i>	Soroka (2010)
	<i>Utterbackia peggyae</i>	Breton et al. (2011)
	<i>Utterbackia peninsularis</i>	Breton et al. (2011)
	<i>Venustaconcha ellipsiformis</i>	Chakrabarti et al. (2006)
	<i>Villosa lienosa</i>	Curole and Kocher (2005)
	<i>Villosa villosa</i>	Walker et al. (2006)
Unionoidea/Margaritiferidae	<i>Cumberlandia monodonta</i>	Breton et al. (2011)
	<i>Dahurinaia dahurica</i>	Walker et al. (2006)
	<i>Margaritifera hembeli</i>	Curole and Kocher (2005)
	<i>Margaritifera margaritifera</i>	Hoeh et al. (2002)
Hyrioidea/Hyriidae	<i>Hyridella menziesi</i>	Hoeh et al. (2002)
Trigonoidea/Trigoniidae	<i>Neotrigonia margaritacea</i>	Hoeh et al. (2002)
Mytiloidea/Mytilidae	<i>Brachidontes exustus</i>	Lee and O’Foighil (2004)
	<i>Brachidontes pharaonis</i>	Lee and O’Foighil (2004)
	<i>Brachidontes variabilis</i>	Sirna Terranova et al. (2007)
	<i>Geukensia demissa</i>	Hoeh et al. (1996)
	<i>Musculista senhousia</i>	Passamonti (2007)
	<i>Mytella charuana</i>	Alves et al. (2011)
	<i>Mytilus californianus</i>	Beagley et al. 1997
	<i>Mytilus coruscus</i>	Breton et al. (2011) ²
	<i>Mytilus edulis</i>	Zouros et al. (1994)
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Quesada et al. (1996)
	<i>Mytilus trossulus</i>	Zouros et al. (1994)
	<i>Perumytilus purpuratus</i>	Vargas et al. (2015)
Arcticoidea/Arcticidae	<i>Arctica islandica</i>	Dégletagne et al. (2015)

Mactroidea/Mactridae	<i>Pseudocardium sachalinense</i>	Plazzi (2015)
Solenoidea/Solenidae	<i>Solen grandis</i>	Genbank
Tellinoidea/Donacidae	<i>Donax cuneatus</i>	Genbank
	<i>Donax faba</i>	Genbank
	<i>Donax trunculus</i>	Theologidis et al. (2008)
	<i>Scrobicularia plana</i>	Present study
Tellinoidea/Semelidae	<i>Cyclina sinensis</i>	Genbank
Veneroidea/Veneridae	<i>Venerupis philippinarum</i>	Passamonti and Scali (2001)
	<i>Meretrix Lamarckii</i>	Plazzi et al. (2015)
	<i>Ledella sublevis</i>	Boyle and Etter (2013)
Nuculanoidea/Nuculanidae	<i>Ledella ultima</i>	Boyle and Etter (2013)
	<i>Yoldia hyperborea</i>	Present study

3.4.4. Phylogenetic analyses

A total of 608 *cox1* nucleotide sequences were aligned for a total of 114 operational taxonomic units (OTUs) for phylogenetic analyses. GTR+I+G (Tavaré, 1986) was selected as the best-fitting model of evolution for nucleotides (Table SIII). The majority rule nucleotide-based BI tree was favored as our best tree obtained for this study (Fig. 7). It shows strong topology similarity with both MP and ML trees (Supplementary Figures S5 and S6).

Main features of the BI tree (Fig. 7) are as follows: (1) pteriomorph (Mytiloidea) + *Yoldia hyperborea* (PP = 0,80) and heterodont bivalves (Veneroidea) (PP = 0,99) are reciprocally monophyletic with palaeoheterodont (Unionoidea) bivalves being the sister group to these clades (PP = 0,86); (2) the order Veneroidea is well resolved with 3 nodes (PP = 1.00) separating each superfamily: Veneroidea, Tellinoidea and Mactroidea; (3) in both F and M clusters of the order Unionoidea, the superfamily Hyrioidea represented by *H. menziesi* is positioned as a well separated sister group (PP = 1.00) to the Unionoidea superfamily (Note: within the Unionoidea, the separation between the two families Margaritiferidae and Unionidae is also apparent and well supported only in the M cluster [PP = 0.93]); (4) the F and M clades are reciprocally monophyletic only in unionoids and *Mytilus* spp., i.e. the F sequences of different species cluster together as do the M

sequences, all the other species exhibit a phylogenetic pattern where F and M sequences clusters are distinct from one another but are nonetheless sister groups; and (5) branch lengths indicate a higher substitution rate for the M genomes relative to that of the F genomes for almost all species.

3.5. Discussion

3.5.1. Evidence for DUI in *Scrobicularia plana* and *Yoldia hyperborea*

Both *p*-distance and phylogenetic analyses indicate the coexistence of sex-linked F and M mitochondrial lineages in *S. plana* and *Y. hyperborea* (Fig. 7; Table SI; Supplementary Figures S5 and S6). As mentioned earlier, the strategy of searching for sex-biased heteroplasmy of mitochondrial gene sequences as a means for detecting DUI has been successfully employed in other bivalve species (e.g. Boyle and Etter, 2013; Vargas et al. 2015; Dégletagne et al. 2016). DUI can also be detected by *in vivo* localization of male mitochondria in embryos: an aggregate pattern of M-type mitochondria only into the male germline during early embryonic stages is typical of DUI species (Cao et al. 2004; Obata and Komaru, 2005; Cogswell et al. 2006; Milani et al. 2012). The percentage of nucleotide divergence between the F and M *cox1* sequences for both of these species, i.e. 33.4% for *S. plana* and 13% for *Y. hyperborea*, is within the range of what has been found for other bivalves with DUI (e.g. 8% in the veneroid *Artica islandica* [Dégletagne et al. 2016], 17% in the nuculanoid *Ledella sublevis* [Boyle and Etter, 2013]; 24% in the mytiloid *Mytilus edulis* [Breton et al. 2006], and 50% in the unionoid *Inversidens japonensis* [Doucet-Beaupré et al. 2010]).

The discovery of DUI in *Y. hyperborea* provides the first example of this unusual system of mitochondrial DNA transmission in the family Yoldiidae, and the third case for the order Nuculanoida (subclass Protobranchia; Boyle and Etter, 2013). Protobranchia being the most basal lineage within the Bivalvia (Giribet and Wheeler, 2002; Smith et al. 2011), this result suggests that the origin of DUI is older than the birth of the autolamellibranchiata (Theologidis et al. 2008; Doucet-Beaupré et al. 2010; Boyle and Etter, 2013). However, of the three protobranch orders, only the Nuculanoida, has been

reported to exhibit DUI (Boyle and Etter, 2013), and the phylogenetic status of this order is still being questioned. Recent phylogenetic studies suggest that the Nuculanoida is not a member of the basal protobranch group, which includes Nuculoida and Solemyoida, but instead is associated with the Pteriomorpha (Wilson et al. 2010; Plazzi et al. 2011; Breton et al. unpublished). The presence of DUI in protobranchs thus remains an open question until the publication of a well-supported and robust phylogeny of bivalves showing the monophyly of the traditional clade Protobranchia (i.e. Solemyoida + Nuculoida + Nuculanoida) and/or until the discovery of DUI in nuculoid or solemyoid bivalves.

The peppery furrow shell *Scrobicularia plana* belongs to the order Veneroida. It is the first reported species with DUI from the family Semelidae, raising the total number of veneroid families in which DUI has been discovered to six (Theologidis et al. 2008; Plazzi, 2015; Dégletagne et al. 2016; present study). Apart from providing new insights into the taxonomic distribution of DUI, *S. plana* may play a key role for better understanding the hypothesized role of DUI in sex determination (e.g. Breton et al. 2007; Breton et al. 2011a; Breton et al. 2014; Breton and Stewart, 2015; Mitchell et al. 2016). Indeed, an “intersex” condition, i.e. the appearance of oocytes in male gonads following endocrine disruption, has been reported in *S. plana* and is associated with differentially expressed mitochondrial transcripts in males exhibiting intersex compared to “normal” males (Chesman and Langston, 2006). Specifically, using a suppressive subtractive hybridization approach, Ciocan et al. (2012) were able to determine that several mitochondrial mRNA transcripts were down-regulated in clam intersex samples (i.e. *cox1*, *cytb*, *nad1*, *nad2*, *nad3*, *nad4*). Interestingly, we observed that the down-regulated *cox1* sequence identified by Ciocan et al. (2012) was identical to the male *cox1* sequences from our study, indicating that the down-regulation of male mitochondrial sequences is associated with the appearance of female characteristics in male gonads in this species. These results provide more evidence for a link between DUI and sex determination or differentiation. It is noteworthy that the intersex has been shown to be a widespread phenomenon in bivalves, including in species with DUI (e.g. *R. philippinarum* [Lee et al. 2010] and *M. galloprovincialis* [Ortiz-Zarragoitia and Cajaraville, 2010]).

3.5.2. Taxonomic distribution of DUI in bivalves: an update

Including the two species in the present study, DUI has been reported to date in 103 bivalve species belonging to four subclasses (Heterodonta, Palaeoheterodonta, Pteriomorpha, Protobranchia [but see above comments regarding the questionable inclusion of Nuculanoida within the Protobranchia]), four orders (Mytiloida, Nuculanoida, Unionoida, Veneroida), nine superfamilies (Arcticoidea, Hyrioidea, Mactroidea, Mytiloidea, Nuculanoidea, Solenoidea, Tellinoidea, Unionoidea, Veneroidea) and twelve families (Arcticidae, Donacidae, Hyriidae, Mactridae, Margaritiferidae, Mytilidae, Nuculanidae, Semelidae, Solenidae, Unionidae, Veneridae, Yoldiidae) (Table V and Fig. 7). However, DUI is certainly more widespread in the Bivalvia given that its detection remains difficult; the higher rate of molecular evolution of M type mitochondrial genomes may make it less likely that “universal” mitochondrial primers will anneal to and amplify the M type (Theologidis et al. 2008; Zouros, 2013). In addition, the process of mitochondrial genome “masculinization,” i.e. when an F genome invades the male route of transmission, can also make the paternally-transmitted genome almost indistinguishable from the maternally-transmitted one (Stewart et al. 2009; Theologidis et al. 2008; Zouros, 2013). Additional studies of bivalves and other mollusc species will significantly contribute to better understanding the taxonomic distribution of the system of doubly uniparental inheritance of mtDNA.

3.5.3. Phylogenetic analyses and the origin of DUI

As for other veneroid and nuculanoid species (e.g. Theologidis et al. 2008), the sex-linked mtDNA sequences of *S. plana* and *Y. hyperborean*, respectively, exhibit a phylogenetic pattern in which the F and M mtDNA sequences are different from one another but yet cluster together in a monophyletic group (Fig. 7). Such a pattern can also be seen in the order Mytiloida (Fig. 7), except for the *Mytilus* species complex, which is in agreement with previous studies (e.g. Doucet-Beaupré et al. 2010). Conversely, the observed F/M phylogeny of unionoids contrasts with the patterns observed in the mytiloids, nuculanoids and veneroids. In unionoids, all of the F sequences cluster together and all of the M

genomes cluster together such that the F sequences form a monophyletic clade and the M sequences form a monophyletic clade. Similar results from Doucet-Beaupré et al. 2010 suggest that distinct M and F lineages have been maintained for at least 200 million year for Unionoidea. The observed phylogenetic pattern of the unionoids could be related to the absence of a masculinization event in this group for over 200 million years (Hoeh et al. 2002). One hypothesis explaining why F-to-M masculinization events do not occur in freshwater mussels involves the *cox2* extension present only in the M genome (Curolle and Kocher, 2002). If this extension is essential for the function or transmission of the M genome (Curolle and Kocher, 2002; Chakrabarti et al. 2006, 2007) then masculinization events are no longer possible in this group, unless F genomes are able to obtain, by recombination, those male-specific elements necessary for being paternally transmitted (Stewart et al. 2009; Doucet-Beaupré et al. 2010). The M genome is considered as a “nearly selfish” element in the sense that it does fulfill its function only if this work cannot be done by the F genome. In other words, paternally-transmitted mt genomes only perform male specific functions. This restricted functionality of the M mtDNA to male gonad tissue is one factor that may explain why the M genome usually evolves faster than the F genome in species with DUI, i.e. because of relaxed selective constraints (Stewart et al. 1996; Zouros, 2000; Passamonti et al. 2003). The other hypotheses that have been proposed to explain the higher rate of evolution of the M genome include (i) a higher number of male germ line mitotic divisions preceding gametogenesis compared to the female germ line (Selwood, 1968; Zwaan and Mathieu, 1992; Stewart et al. 1996), (ii) a greater degree of oxidative damage in metabolically active sperm relative to eggs (Stewart et al. 1996; Zouros, 2013) and/or (iii) a smaller effective population size of male mitochondria compared to female mitochondria (Stewart et al. 1996; Zouros, 2013).

As for other recent morphological and molecular studies based on mtDNA and nuclear sequences (Giribet and Wheeler, 2002; Giribet and Distel, 2003; Bieler and Mikkelsen, 2006; Plazzi and Passamonti, 2010; Plazzi et al. 2011; Breton et al. unpublished), our results support a more derived Nuculanoida clustering with Pteriomorphia instead of a basal position of Nuculanoida + Opponobranchia (=Protobranchia). Therefore, the question about the origin of DUI in the branch leading to the Autolamellibranchia about 460 millions years old ago (Little and Vrijenhoek, 2003) or

much earlier, perhaps in the early Cambrian (Boyle and Etter, 2013), still remains open. The taxonomic position of *Y. hyperborea* and other members of the order Nuculanoida should be tested using an expanded data set. A robust bivalve phylogeny, as well as a much more accurate understanding of the taxonomic distribution of DUI, is needed to allow a rigorous evaluation of a single vs. multiple origins of DUI.

The phylogeny obtained clearly show the split between M and F types at the base of the Unionoida, and one split for each species exhibiting a taxon-specific pattern (Figure 7). Taken at face value, this pattern implies a large number of independent origins of DUI. Given the rare molecular and developmental complexity associated to the DUI system, this hypothesis seems unlikely but cannot be completely rejected yet (Zouros, 2013). The opposite hypothesis of a single origin of DUI can only be true if associated with masculinization events along each branch of the phylogenetic tree of the Bivalvia where F and M types are each other's closest relatives. Because masculinization events restore nucleotide divergence between F and M mtDNAs to zero for most of the genes in each of the sex-associated genome (except for key sperm transmission elements; see below), this phenomenon could explain the F/M phylogenetic patterns of mytiloids, nuculanoids and veneroids. As a consequence of the many similarities found among the distantly-related DUI species (e.g. sex ratio bias, mitochondria's behavior in the newly formed zygotes, rates of evolution of the two genomes), and because of the complexity of the DUI system, we favor the hypothesis of a single origin of DUI with repeated masculinization events. Such masculinization events have already been clearly demonstrated in *Mytilus* (reviewed in Stewart et al. 2009; Zouros, 2013), and evidence suggests that mitochondrial recombination and acquisition of key elements of the evolutionarily older M mt genome (i.e. sperm transmission elements) are necessary for a F genome to be transmitted via sperm (e.g. Stewart et al. 2009; Zouros, 2013; Kyriakou et al. 2015).

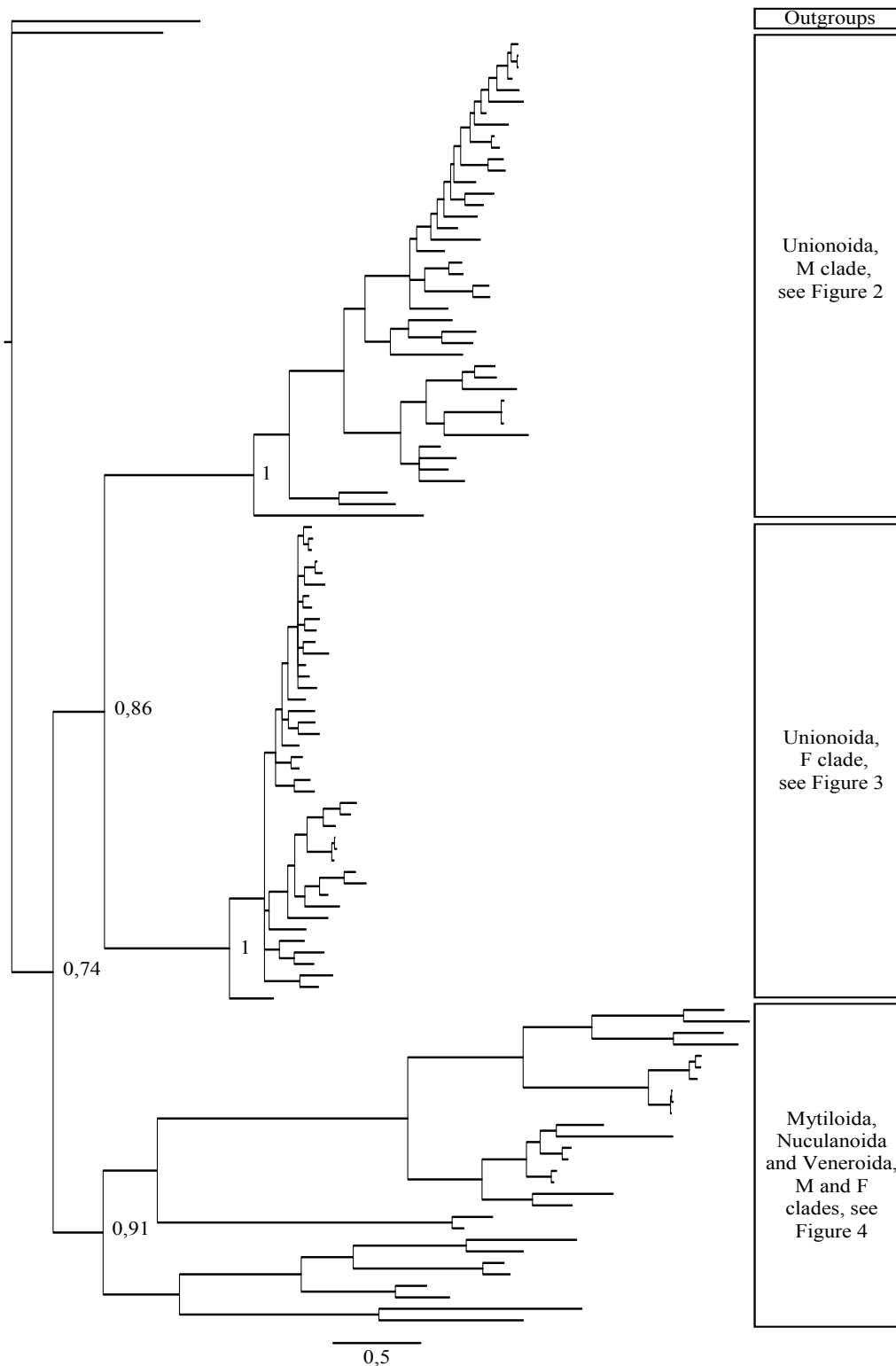


Figure 7. Bayesian inference majority-rule tree of bivalve mitochondrial *coxI* partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model. Number at each node indicates nodal support. Boxes indicate to which order every species belongs prior to genetic analyses. *: Nuculanoida. ML and MP phylogenetic trees are shown in Supplementary Materials (Fig. S3, S4).

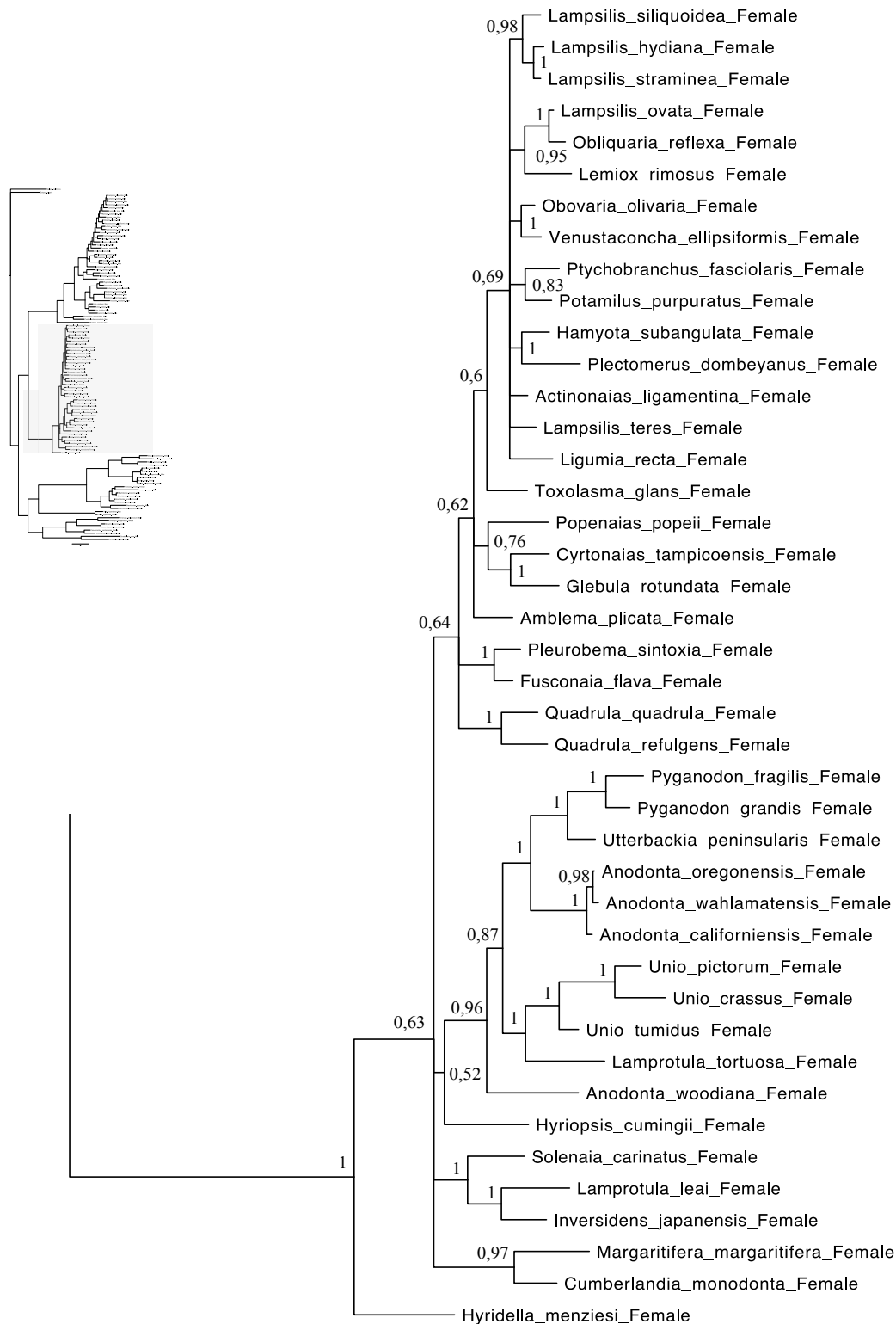


Figure 9. Bayesian inference majority-rule tree of Unionoida bivalve Female mitochondrial *cox1* partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model. Number at each node indicates nodal support. *: Nuculanoida. ML and MP phylogenetic trees are shown in Supplementary Materials (Fig. S3, S4).

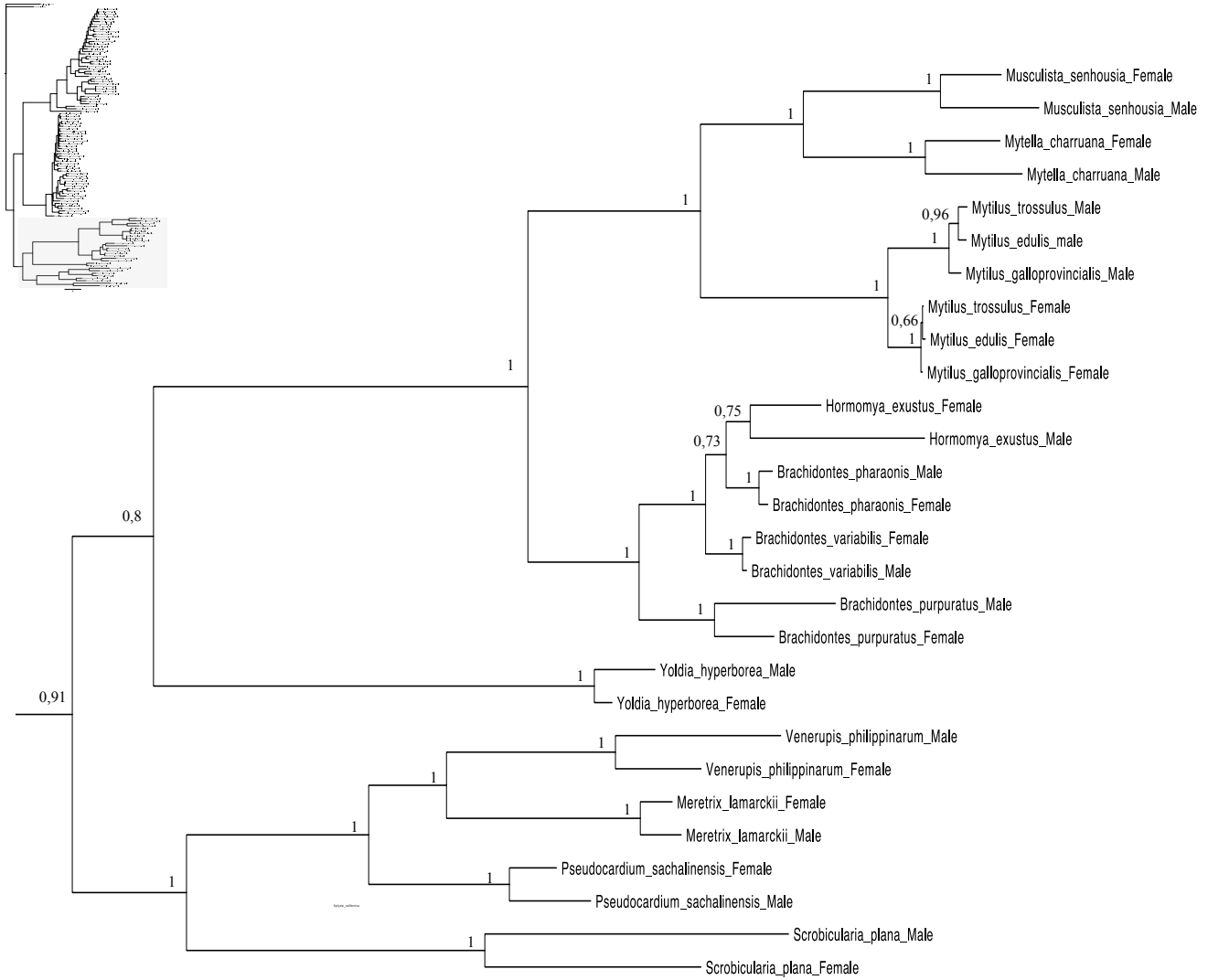


Figure 10. Bayesian inference majority-rule tree of Mytiloida, Nuculanoida and Veneroida bivalve mitochondrial *cox1* partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model. Number at each node indicates nodal support. *: Nuculanoida. ML and MP phylogenetic trees are shown in Supplementary Materials (Fig. S3, S4).

To conclude, our study presents evidence for the existence of DUI in the nuculanoid species *Yoldia hyperborea* and the veneroid species *Scrobicularia plana*. Because the taxonomic position of *Y. hyperborea* and its order Nuculanoida has been debated over the years and still remain uncertain, the question about the origin of DUI during the Cambrian or before is still unresolved. A much more accurate understanding of the taxonomic

distribution of DUI across the Bivalvia would allow confirming the single or multiple origins of this unusual system of mitochondrial heredity. Testing for its presence in all bivalve superfamilies, especially the one not studied yet (e.g. Solemyoidea, Lucinoidea, Carditoidea), is the only way to make a definitive statement.

Acknowledgements

We would like to thank Cindy Grant and Françoise Denis for providing us the samples, and El-Amine Mimouni for his assistance with the phylogenetic analysis. This work was supported by funding from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grant no., RGPIN/435656-2013 to S.B. and grant no., RGPIN/217175-2013 to D.T.S.). A.G. was financially supported by the Groupe de Recherche Interuniversitaire en Limnologie et en environnement aquatique (GRIL) and by the Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales (FESP) of the University of Montreal.

4. DISCUSSION

4.1. La détection du système DUI

L'objectif principal de ce projet était d'évaluer la distribution taxonomique du système DUI chez les mollusques, spécifiquement chez des groupes/familles pour lesquels sa présence n'a jamais été testée. Pour y parvenir, 17 espèces de bivalves et 5 espèces de gastéropodes ont été étudiées (Tableau VI). Sur ces 22 espèces, 13 n'ont pas pu faire l'objet d'un article scientifique à cause de l'ambiguïté rencontrée lors de la détermination du sexe. Pour pouvoir bien distinguer les mâles (spermatozoïdes) des femelles (ovaire) au microscope, les espèces doivent avoir atteint la maturité sexuelle et être en période de reproduction (Helm et *al.* 2004). Chez la plupart des bivalves cette maturité sexuelle dépend à la fois de l'âge, de la taille ou de la distribution géographique (Helm et *al.* 2004). De telles conditions n'ont donc probablement pas été réunies lors de l'échantillonnage. Cependant, nous avons pu obtenir et identifier des individus mâles et femelles pour 5 espèces de bivalves et 5 espèces de gastéropodes. Sur ces cinq espèces de bivalves, la palourde, *Arctica islandica* (Bivalvia : Arcticiidae), a été testée positive pour la présence de la DUI durant le cours de ce projet par l'équipe de Dégletagne et *al.* (2016). Cette découverte s'avère d'autant plus pertinente étant donné que cette espèce est connue pour détenir le record de longévité au sein du règne animal (Butler et *al.* 2013). En utilisant les anneaux de croissance présents sur la surface externe de la coquille, l'âge d'un individu échantillonné au large des côtes islandaises a été évalué à 507 ans (Butler et *al.* 2013). Ming, du nom de la dynastie chinoise sous laquelle ce spécimen serait né en 1492, aurait sûrement pu vivre plus longtemps si les chercheurs ne l'avaient pas tué en essayant de l'ouvrir.

Outre *Arctica islandica*, ce projet a permis la découverte de la DUI chez deux nouvelles espèces et familles de bivalves, soient *Yoldia hyperborea* (Bivalvia : Yoldiidae) et *Scrobicularia plana* (Bivalvia : Semelidae), ainsi que de fortement suggérer l'absence du système DUI chez les gastéropodes. Les répercussions associées sur l'origine et la fonction de ce mode d'hérédité sont également intéressantes. *Y. hyperborea* qui appartient aux protobranches (Sharma et *al.* 2013) confirme qu'en cas d'origine unique, celle-ci remonterait à la naissance du groupe des bivalves (quoique la position phylogénétique du groupe des nuculanidés auquel appartient *Y. hyperborea* demeure encore controversée; Plazzi et *al.* 2011). *S. plana* est elle capable de se mettre à produire simultanément des œufs

et des spermatozoïdes au cours de sa vie (Chesman et Langston, 2006). En approfondissant les recherches sur l'expression des génomes mitochondriaux mâles et femelles lors de ce processus, nous pourrions apporter de grandes évidences quant à l'implication de la DUI dans le maintien des sexes séparés (e.g. Breton et *al.* 2007; Breton et *al.* 2011a; Breton et *al.* 2014; Breton et Stewart, 2015). Ces deux découvertes, associées à une revue exhaustive de la littérature, nous ont permis d'établir une toute nouvelle liste des espèces possédant le système DUI. Ce mode d'hérédité unique aux bivalves est en réalité présent chez 103 espèces appartenant à 4 sous-classes (Heterodonta, Palaeoheterodonta, Protobranchia, Pteriomorphia), 4 ordres (Mytilida, Nuculanida, Unionoida, Veneroida) et 12 familles (Arcticidae, Donacidae, Hyriidae, Mactridae, Margaritiferidae, Mytilidae, Nuculanidae, Semelidae, Solenidae, Unionidae, Veneridae, Yoldiidae) (Table III). L'objectif d'obtenir une taxonomie complète de la DUI ne sera probablement jamais atteint étant donné le nombre d'espèces vivantes de bivalves estimé à environ 25 000 (www.bivatol.org). Une possibilité serait de réduire l'échelle d'une telle étude au rang taxonomique de la famille, avec quelques espèces représentatives de chaque famille. C'est ce qui a été fait chez les moules d'eau douces. Sur les 7 familles présentes dans cet ordre, quatre ont été testées positives pour la présence de ce système (i.e. Trigoniidae, Unionidae, Hyriidae et Margaritiferidae) alors que les trois autres (i.e. Etheriidae, Iridinidae, Mycetopodidae) semblent l'avoir perdu. Avec 115 familles de bivalves, le temps et la patience seront les deux obstacles majeurs à cet objectif.

Le troisième obstacle, mentionné précédemment, concerne les risques de résultats faussement négatifs (Zouros, 2013). En prenant en compte cette difficulté supplémentaire, obtenir un tableau complet et fidèle de la distribution taxonomique pour le système DUI semble encore plus difficile. Pour pallier ces problèmes de faux négatifs, plusieurs options sont envisageables: (i) l'observation *in vivo* du comportement des mitochondries dans les embryons de bivalves par fluorescence pour enlever toute incertitude sur la présence/absence de la DUI (les mitochondries s'agrègent dans un blastomère au stade 4 cellules seulement chez les mâles avec DUI), (ii) construire des amorces spécifiques à chaque génome éviterait le risque de passer à côté du génome mâle lors de l'étape d'amplification, (iii) extraire l'ADN des spermatozoïdes plutôt que du tissu gonadique afin d'empêcher les risques de contamination par des tissus somatiques. Chez certains groupes

comme les moules d'eau douce la situation est toutefois plus facile à gérer. En se basant sur la présence de l'extension du gène *cox2* unique au génome mâle (Curolle et Kocher, 2002), relever la présence de la DUI devient chose plus aisée (Walker et al. 2006). Cela explique en partie pourquoi l'ordre des moules d'eau douce compte actuellement le plus d'espèces recensées avec ce système DUI.

Mis à part les risques de faux négatifs, l'étape d'amplification en elle-même représente un défi méthodologique majeure dans la quête du DUI. Si l'on connaît aujourd'hui les génomes complets de certaines espèces de bivalves, celles à haute importance économique (i.e. *Mytilus edulis* [moule bleue] et *Crassostrea gigas* [Huître commune]), ce groupe reste relativement peu étudié concernant le contenu génique. Une chose est sûre, la séquence de leur génome mitochondrial diffère radicalement de ce que l'on retrouve dans le règne du vivant (Plazzi et al. 2013). En conséquence, les amorces universelles établis pour les gènes mitochondriaux se sont révélées peu efficaces avec nos espèces à l'étude, spécialement pour les gènes *12S* et *Cytb* (Tableau VI). Cependant, l'amplification des gènes *cox1* et *16S* a été nettement plus efficaces pour deux raisons : (i) ils figurent parmi les gènes les mieux conservés chez les eucaryotes (Devarapalli et al. 2014) et (ii) leurs utilisations dans la quasi-totalité des études phylogénétiques a permis à différents chercheurs d'établir de nouvelles amorces plus fidèles et même d'amorcer la création de codes à barres selon l'ADN chez les mollusques (Meyer, 2003; Lobo et al. 2013; Layton et al. 2014). Malgré tout, pour trois espèces (i.e. *Musculus niger*, *Macoma calcarea* et *Astarte borealis*) aucun gène n'a pu être amplifié. Cela peut être expliqué par l'incapacité des amorces à s'hybrider sur le génome mais aussi par une dégradation trop importante de l'ADN lors de son extraction ou de la présence d'inhibiteur à PCR dans nos échantillons. La dégradation de l'ADN a pu être visualisé sur les photos prises des gels d'agarose. Les inhibiteurs peuvent eux être multiples chez les bivalves, on compte le risque de contamination à l'éthanol, celui de contamination par les selles étant donné que la masse viscérale est mélangée aux gonades et enfin la présence de mucus, une caractéristique très prononcée chez ce groupe. Malgré ces quelques difficultés, un total de 143 séquences ont été obtenues dans la cadre de ce projet (Fig. S7).

Tableau VI. Tableau complet des espèces testées dans le cadre de ce projet de maîtrise. Les marqueurs mitochondriaux pour lesquels l'amplification a fonctionné sont indiqués par le symbole ✓, les amplifications sans succès par le symbole X et celles non réalisées par le symbole -.

Classe	Famille	Espèce	Cox1	16S	12S	CytB	DUI
Bivalvia	Arcidae	<i>Batharca glacialis</i>	✓	X	X	X	Non
	Arcticidae	<i>Arctica islandica</i>	✓	✓	X	X	Oui
	Astartidae	<i>Astarte montagui</i>	X	X	X	X	Non
	Astartidae	<i>Astarte borealis</i>	X	X	X	X	Non
	Cardiidae	<i>Cerastoderma edule</i>	✓	✓	X	X	Non
	Cyrenidae	<i>Polymesoda sp.</i>	✓	✓	-	-	Non
	Mesodesmatidae	<i>Mesodesma deauratum</i>	✓	✓	-	-	Non
	Mytilidae	<i>Musculus niger</i>	X	X	X	X	Non
	Mytilidae	<i>Musculus discors</i>	X	✓	X	X	Non
	Nuculanidae	<i>Nuculana pernula</i>	✓	X	X	X	Non
	Pectinidae	<i>Similipecten greenlandicus</i>	✓	X	-	-	Non
	Pectinidae	<i>Placopecten magellanicus</i>	✓	X	X	X	Non
	Pharidae	<i>Ensis directus</i>	✓	✓	X	X	Non
	Semelidae	<i>Scrobicularia plana</i>	✓	✓	X	X	Oui
	Tellinidae	<i>Macoma calcarea</i>	X	X	X	X	Non
	Yoldiidae	<i>Portlandia arctica</i>	✓	X	X	X	Non
	Yoldiidae	<i>Yoldia hyperborea</i>	✓	✓	X	✓	Oui
Gastropoda	Littorinidae	<i>Littorina littorea</i>	X	✓	-	-	Non
	Lottioidea	<i>Testudinalia testudinalis</i>	✓	✓	-	-	Non
	Muricidae	<i>Nucella lapillus</i>	✓	X	-	-	Non
	Viviparidae	<i>Viviparidae sp.</i>	✓	X	-	-	Non
	Naticidae	<i>Lunatia heros</i>	✓	X	-	-	Non

4.2. Réflexion générale sur le système DUI : émergence, maintien et fonction

Le second objectif de ce projet était de tester l'hypothèse d'une seule origine ou d'origines multiples du système DUI par l'intermédiaire d'analyses phylogénétiques. Grâce à la nouvelle liste des espèces avec DUI, nous avons pu présenter la phylogénie la plus complète obtenue jusqu'à maintenant pour les génomes M et F chez les bivalves. Les

résultats sont en accord avec des études précédentes dans le sens où : (i) les mytilidés (à l'exception du genre *Mytilus*), les vénérédés et les protobranches présentent une distribution où les génomes M et F de chaque espèce vont former un taxon monophylétique tandis que (ii) les moules d'eau douce ont elles un patron sexe-dépendant où tous les génomes mâles vont former un taxon et pareil pour les génomes femelles (Doucet-Beaupré et *al.* 2010; Theologidis et *al.* 2008). À première vue, ces résultats suggéreraient plusieurs origines pour la DUI dont une à la base des Unionoidés, mais en tenant compte des phénomènes de recombinaison et de masculinisation qui restaurent les divergences à zéro, l'hypothèse d'une origine unique demeure également plausible (Zouros, 2013). Pour confirmer une des deux hypothèses, il faudrait soit prouver que les séquences surnuméraires (ORFs) présents dans les génomes mitochondriaux sont d'origines virales et qu'elles assurent leur propre transmission (e.g. origines multiples), soit obtenir une distribution complète de la DUI, y compris en dehors de mollusques si c'est le cas, ou démontrer pourquoi les moules d'eau douce ne rencontrent pas de masculinisation du génome femelle (e.g. origine unique).

La question de l'origine du système DUI a largement été développée dans les chapitres précédents sans pour autant se pencher sur les mécanismes sous-jacents qui ont permis son émergence. À ce propos, une étude a suggéré que la DUI serait apparue suite à une modification de la machinerie moléculaire d'ubiquitination associée à la SMI (Zouros, 2013) mais les mécanismes exacts demeurent pour le moment inconnus. Un modèle expliquant le scénario sous lequel la DUI et le gonochorisme auraient évolué ensemble en s'inspirant de la théorie « égoïste » de gènes mitochondriaux a récemment été proposé (Milani et *al.* 2016). Ce modèle peut être divisé en plusieurs étapes :

Étape 1

Chez une population ancestrale de bivalves hermaphrodites, un virus aurait infecté certaines mitochondries de manière à leur conférer l'habilité d'éviter la dégradation dans l'embryon tout en assurant leur transmission à travers les générations.

Étape 2

Les mitochondries infectées sont présentes à la fois dans les lignées germinales mâles et femelles, mais il est possible d'envisager une propagation plus efficace par les

spermatozoïdes pour les raisons suivantes :

- a. Les mâles produisent nettement plus de gamètes que les femelles. Par exemple chez la palourde *R. philippinarum*, le ratio spermatozoïdes:œufs est de 50:1 (Milani et al. 2016).
- b. La majorité des insertions rétrovirales sont acquises par la lignée germinale mâle à cause du nombre élevé de divisions cellulaires impliquées dans la production des spermatozoïdes comparé aux œufs (Katzourakis et al. 2007).
- c. La fréquence importante des épisodes de fission et fusion mitochondriale durant la réplication cellulaire peut être un mécanisme supplémentaire permettant à l'élément viral de se propager dans les mitochondries (Mitra, 2013; Mishra et Chan, 2014).

Étape 3

Le nombre de spermatozoïdes infectés augmente dans la population. Si l'on suppose que ces séquences virales permettent aux mitochondries qui les contiennent d'être préférentiellement dirigées vers le blastomère qui produira la lignée germinale mâle (un comportement observé chez les espèces avec DUI : Milani et al. 2012; Zouros, 2013) et transmises à la progéniture, alors dans les générations futures l'élément viral est de plus en plus présent.

Étape 4

L'infection a permis la transmission des mitochondries paternelles et maternelles. Sous ces conditions, les mitochondries sont désormais également soumises à la sélection pour des fonctions propres aux mâles comme la spermatogénèse et la capacité de mobilité des spermatozoïdes. Les mutations mitochondriales qui augmentent la valeur sélective des mâles sont alors soumises à une pression sélective positive et vont se répandre rapidement dans la population.

Étape 5

L'émergence des mâles et la transition d'hermaphrodisme à androdioécie : le gonochorisme peut apparaître quand un mutant unisexe (i.e. porteur d'une mutation

rendant la « partie mâle » ou la « partie femelle » stérile) envahit la population et que les hermaphrodites restant se spécialisent dans le genre unisexué complémentaire (Charlesworth et Charlesworth, 1978). Deux modèles théoriques sont possibles pour expliquer cette transition : gynodioécie (femelles + hermaphrodites) et l'androdioécie (mâles + hermaphrodites). Chez les animaux la transition d'hermaphrodisme à androdioécie est la plus commune (Weeks, 2012). Pour être maintenus au sein de la population, les mutants doivent présenter un avantage sélectif sur les hermaphrodites. Cet avantage consiste à la fois à augmenter la diversité génétique (éviter l'autofertilisation) et à réduire le coût énergétique lors de la production des gamètes (les spermatozoïdes sont énergétiquement moins coûteux à produire) (Charlesworth et Charlesworth, 1978; Weeks, 2012).

Étape 6

L'évolution du gonochorisme à partir de l'androdioécie : la proportion de mâles augmente au sein de la population jusqu'à ce que l'avantage sélectif soit neutralisé par le désavantage d'une population biaisée par un nombre trop élevé de mâles. Dans ces conditions, la pression sélective sur la production d'œufs sera forte et les mutations en faveur d'une stérilité masculine chez les hermaphrodites hautement favorisées.

Étape 7

Les interactions entre le génome nucléaire et les éléments cytoplasmiques créant une distorsion de sex-ratio peuvent mener à l'évolution de gènes compensatoires dans le génome nucléaire afin de restaurer la sex-ratio dans la population (Hurst, 1992). De tels gènes peuvent entraîner la monogénie, une condition sous laquelle tous les individus d'une même portée seront soit exclusivement mâles ou femelles (Werren et Beukeboom, 1998). En soutien à cette théorie, de nombreuses espèces avec la DUI présentent un tel phénomène où une femelle, peu importe avec quel mâle elle sera croisée, produira exclusivement des mâles ou exclusivement des femelles (Kenchington et *al.* 2002; Ghiselli et *al.* 2012; Machordom et *al.* 2015).

Il reste à déterminer quels sont les gènes qui ont permis la transmission du génome

paternel à la descendance et ceux qui ont permis de rétablir les sex-ratios. Dans leur étude, Milani et *al.* (2016) ont procédé à une analyse transcriptionnelle, translationnelle et fonctionnelle des cadres de lecture ouvert présents dans les génomes mitochondriaux mâles et femelles de la palourde marine *R. philippinarum*. Les auteurs ont suggéré que le gène RPHM21 du génome mitochondrial mâle serait responsable d'éviter la destruction des mitochondries paternelles et le gène RPHF22 du génome femelle comme celui responsable de rééquilibrer les sex-ratios. Le doute majeur entourant ces hypothèses concerne la position mitochondriale et non nucléaire du gène RPHF22, puisque dans la littérature les gènes responsables de balancer les sex-ratios sont essentiellement nucléaires (Milani et *al.* 2016). Il est possible que RPHF22 soit un des éléments, avec d'autres éléments codés par le génome nucléaire, prenant part à la cascade moléculaire responsable de rétablir les sex-ratios. Une approche pertinente pour être certains du rôle rempli par ces gènes serait la manipulation de leur transcription/expression en utilisant des individus « knock-out » ou des ARN d'interférences.

Un scénario similaire avait déjà été proposé chez les moules d'eau douce (Breton et *al.* 2011) : il est possible d'envisager que la DUI aurait émergé chez une espèce hermaphrodite (Davison, 2006; Breton et *al.* 2007) qui tolérât les effets néfastes de l'hérédité biparentale de l'ADNmt. Compte tenu de l'avantage apporté par cette hérédité (maintenance d'un sex ratio 50:50 et permet d'éviter les effets délétères de l'auto-fertilisation) les mitochondries paternelles auraient ainsi pu envahir les lignées futures (Breton et *al.* 2011). Cette théorie repose également sur la présence de cadres de lecture codant pour des protéines impliquées dans la détermination sexuelle (Breton et *al.* 2011). En revanche cette théorie s'oppose à l'origine virale de ces gènes comme décrit dans la précédente en proposant comme système d'apparition des nouveaux gènes le modèle « duplication-divergence-fonctionnalisation ». Ces deux hypothèses font cependant opposition à la logique de la sélection naturelle qui favorise l'hérédité uniparentale comme le meilleur moyen d'éviter le conflit inter-génomique dans la communication mito-nucléaire (Lane, 2005), mais la valeur sélective des conséquences apportées par cette hérédité pourrait bien expliquer le maintien du système DUI.

À la suite de l'émergence de la DUI, la cellule a dû mettre en place un système pour gérer ce « ménage à trois génétique » qui en temps normal devrait perturber la communication mito-nucléaire. Pour pallier à ce problème, une adaptation du génome nucléaire est possible par : (i) l'épissage alternatif des gènes nucléaires pour produire des isoformes adaptés pour interagir avec un variant mitochondrial spécifique (Wolff et *al.* 2014), (ii) rendre muette l'expression d'une des lignées mitochondriales dans les cellules hétéroplasmiques pour rétablir l'homoplasmie (Babayev et Seli, 2015) ou (iii) maintenir un noyau hétérozygote avec certains allèles maternels et paternels co-évoluant respectivement avec les mitotypes maternel et paternel (Wolff et *al.* 2014).

D'un point de vue fonctionnel, les preuves de l'implication de la DUI dans la détermination du sexe, plus précisément dans le maintien des sexes séparés, se sont accumulées durant les dernières années, mais d'avantage d'informations relatives à ce sujet demeurent requises. Par exemple, certaines études suggèrent que la masculinité n'est pas dépendante du génome mitochondrial mâle chez les Mytilidés (e.g. Kenchington et *al.* 2009) tandis que d'autres suggèrent fortement que les ADNmt F et M sont des éléments clés impliqués dans la détermination du sexe chez ce même groupe (e.g. Yusa et *al.* 2013). En plus de ces contradictions, les lacunes de nos connaissances sur les modes de détermination du sexe chez les bivalves sont un vrai obstacle (Breton et *al.* en préparation). Pour seulement une poignée des espèces de bivalves le déterminisme sexuel est connu. On estime que 96% sont gonochoriques et les 4% restants hermaphrodites et hermaphrodites protandriques, c'est à dire à phases successives mâles puis femelles (Morton, 1963). Parmi les mécanismes de détermination du sexe qui sont connus chez les bivalves, on retrouve :

- Un système où la température influe sur l'expression de gènes impliqués dans la cascade moléculaire de détermination sexuelle (i.e. les gènes *Cg-Foxl2*, *Cg-Foxl2os*, *Cg-DM1*, *Cg-SoxE* et *Cg- β -catenin* ; Naimi et *al.* 2009a,b; Santerre et *al.* 2012) chez l'huître *Crassostrea gigas*.
- Un système génétique où certains gènes connus pour déterminer le sexe mâle chez les mammifères sont exprimés à la hausse (*Sry*, *Dmrt1*, *Dmrt2*, *Sox9*, *GATA4* et *WT1*) et idem pour le sexe féminin (*Wnt4*, *Rspo1*, *Foxl2*, and *β -catenin*) chez la moule d'eau douce *Hyriopsis schlegelii* (Shi et *al.* 2015).

- Un système chromosomique X/Y similaire à celui des mammifères chez la palourde *Mulinia lateralis* (Guo et al. 1994)
- Un système chromosomique dépendant du rapport X/autosome identique à la drosophile chez la palourde *Mya arenaria* (Allen et al. 1986)
- L'environnement (e.g. pollution, stéroïde exogène, disponibilité en nourriture) joue également un rôle dans le déterminisme sexuel d'un grand nombre de bivalves tels que *Pinctada margaritifera*, *Placopecten magellanicus* et *Mytella charruana* (Stenyakina et al. 2010 ; Wang et Croll, 2004 ; Teaniniuraitemoana et al. 2016). Cependant, les gènes associés aux cascades moléculaires n'ont pas été détectés.

4.3. Priorités de recherche et contribution générale du système DUI

Depuis sa découverte au début des années 90, le travail accompli afin de mieux comprendre le système DUI chez les bivalves est énorme. Plusieurs caractéristiques principales de la DUI ont été décrites : e.g. évolution rapide des génomes mâles et femelles chez les bivalves par rapport aux autres espèces, distribution tissulaire des haplotypes qui est sexe-spécifique, comportement des mitochondries dans l'embryon qui est sexe-spécifique, corrélation entre perte de la DUI/hermaphroditisme et présence de gènes mitochondriaux surnuméraires. Néanmoins, aucune réponse concrète n'a jusque-là été formulée à propos de l'origine et de la fonction de la DUI. À l'issu de ce mémoire et dans un cadre général de recherche, les priorités d'études qui émergent pour répondre à ces questions sont les suivantes :

- Avoir une meilleure connaissance de la distribution taxonomique du système DUI. Ceci est indispensable pour faire des inférences quant à son origine et sa fonction. À l'intérieur de la classe des bivalves les familles à investiguer en priorité seraient celles des Nuculidae, Solemyidae, Pandoridae et Poromyidae. Ces quatre familles n'ont jusqu'à présent jamais été étudiées et leur position basale dans la phylogénie des bivalves permettrait d'assurer ou non que la DUI est présente chez les bivalves les plus anciens.
- Approfondir les études phylogénétiques. Deux alternatives aux phylogénies « classiques » sont prometteuses : (i) forcer le monophylétisme de la DUI par des contraintes

et comparer à des arbres sans contraintes et (ii) utiliser la technique de reconstruction ancestrale. Ce type de reconstruction consiste à inférer les états actuels des espèces pour un caractère donné (e.g. présence ou absence de la DUI dans notre cas) et remonter les nœuds de l'arbre à l'aide d'algorithmes mathématiques en y associant les probabilités pour chacun des états jusqu'à l'ancêtre commun de ces espèces.

- Séquencer les génomes complets mitochondriaux et nucléaires des espèces avec la DUI. La comparaison des séquences de plusieurs génomes mitochondriaux complets nous permettrait d'analyser les changements structuraux survenus au cours de l'évolution du système. L'obtention des génomes nucléaires complet serait-elle utile pour étudier les gènes impliqués dans la communication mito-nucléaire et de voir comment la cellule s'adapte à l'hétéroplasmie mitochondriale.

- Déterminer les fonctions des gènes surnuméraires présents dans les génomes mitochondriaux des espèces avec la DUI. En répondant à cette question nous pourrions confirmer, ou réfuter, que ces séquences servent à assurer leur propre transmission et/ou qu'elles codent pour des protéines fonctionnelles impliquées dans le maintien des sexes séparés ou toute autre fonction liée à la DUI.

- Étudier l'expression/transcription des génomes mitochondriaux mâles et femelles au cours du temps (e.g. différents stades de développement) et en fonction des tissus. De tels projets sur des espèces capables d'intersexe seraient d'autant plus pertinent pour comprendre le lien entre la détermination du sexe et la DUI.

La plus importante contribution de la DUI à la biologie viendra des possibilités offertes pour comprendre les mécanismes de base de la communication mito-nucléaire. Ce système offre une opportunité unique d'étudier comment l'hétéroplasmie affecte la cellule et comment elle se maintient ou se dégrade au profit de l'homoplasme. Des études approfondies du génome mitochondrial mâle, dont l'action est restreinte au tissu gonadique, permettront d'identifier quelles parties du génome mitochondrial sont soumises à une pression sélective pour des fonctions mâles et quelles parties ne le sont pas. Contrairement aux croisements ou aux injections de cytoplasme entre populations ou espèces (e.g. cybrides), les deux lignées mitochondriales évoluent depuis des millions d'années avec un génome nucléaire commun. Grâce à cette caractéristique le système DUI

pourrait permettre une meilleure compréhension de la co-évolution mito-nucléaire et nous offrirait en même temps un modèle intéressant pour étudier les maladies mitochondriales qui trouvent leur origine dans une perturbation de la communication mito-nucléaire. Au niveau fondamental, si l'implication de la DUI dans la détermination du sexe est confirmée, il s'agira du premier système de détermination sexuelle impliquant la mitochondrie chez espèces animales.

Bibliographie

Akaike, H. (1973) Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. Petrox, B.N. Caski, F. (eds.), Second International Symposium on Information Theory. Akademiai Kiado, Budapest, p. 267.

Allen, S.K Jr, Hidu, H. Stanley, J.G. (1986) Abnormal gametogenesis and sex ratio in triploid soft-shell clams (*Mya arenaria*). The Biological Bulletin, 170:198-210.

Altmann, R. (1894). Die Elementarorganismen Und Ihre Beziehungen Zu Den Zellen. Veit, Leipzig, p. 145.

Altschul, S.F., Madden, T.L., Sc  ffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D.J. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research, 25:3389-3402.

Alves, F.A., Beasley, C.R., Hoeh, W.R., da Rocha, R.M., de Simone L.R., Tagliaro, C.H. (2012) Detection of mitochondrial DNA heteroplasmy suggests a doubly uniparental inheritance pattern in the mussel *Mytella charruana*. Revista Brasileira de Bioci  ncias 10:176-185.

Babayev, E., Seli, E. (2015) Oocyte mitochondrial function and reproduction. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 27:175-181.

Barrientos, A., Kenyon, L., Moraes, C.T. (1998) Human xenomitochondrial cybrids – Cellular models of mitochondrial complex I deficiency. Journal of Biological Chemistry, 273:14210-14217.

Beagley, C.T., Taylor, K.A., Wolstenholme, D.R. (1997) Gender-associated diverse mitochondrial DNA molecules of the mussel *Mytilus californianus*. Current Genetics 31:318-324.

Bernard, F.R. (1967) Studies on the biology of the naticid clam drill *Polinices lewisii* (Gould) (Gastropoda Prosobranchia). Fisheries Research Board of Canada Technical Report, 42:1-41.

Bettinazzi, S., Plazzi, F., Passamonti, M. (2016) The complete female- and male-transmitted mitochondrial genome of *Meretrix lamarckii*. PLoS One, 11:e0153631.

Bieler, R., Mikkelsen, P.M. (2006) Bivalvia – a look at the branches. Zoological Journal of the Linnean Society, 148:223–235.

Birky Jr, C.W. (1995) Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the

U.S.A., 92:11331- 11338.

Birky Jr, C.W. (2001) The inheritance of genes in mitochondria and chloroplasts: laws, mechanisms, and models. *Annual Review of Genetics*, 35:125-148.

Blier, P.U., Breton, S., Desrosiers, V., Lemieux, H. (2006) Functional conservatism in mitochondrial evolution: Insight from hybridization of arctic and brook charrs. *Journal of Experimental Zoology*, 306:425-432.

Bogan, A.E., Hoeh, W.R. (2000). On becoming cemented: evolutionary relationships among the genera in the freshwater bivalve family Etheriidae (Bivalvia: Unionoida). Harper, E.M. Taylor, J.D. Crame, J.A. (eds.), *Geological Society of London, London*, pages consultées 31–46.

Boore, J.L. (1999) Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research* 27:1767-1780.

Boyle, E.E., Etter, R.J. (2013) Heteroplasmy in a deep-sea protobranch bivalve suggests an ancient origin of doubly uniparental inheritance of mitochondria in Bivalvia. *Marine Biology*, 160:413–422.

Branch, G.M. (1981) The biology of limpets: physical factors, energy flow, and ecological interactions. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 19:235-380.

Breton, S., Doucet-Beaupré, H., Stewart, D.T., Hoeh, W.R., Blier, P.U. (2007) The unusual system of doubly uniparental inheritance of mtDNA: isn't one enough? *Trends in Genetics*, 23:465-474.

Breton, S., Stewart, D.T. (2015) Atypical mitochondrial inheritance patterns in eukaryotes. *Genome*, 58:423-431.

Breton, S., Stewart, D.T., Hoeh, W.R. (2010) Characterization of a mitochondrial ORF from the gender associated mtDNA of *Mytilus* spp. (Bivalvia: Mytilidae): Identification of the missing ATPase 8 gene. *Marine Genomics*, 3:11-18.

Breton, S., Stewart D.T., Shepardson, S., Trdan, R.J., Bogan, A.E., Chapman, E.G., Ruminas, A.J., Piontkivska, H., Hoeh, W.R. (2011a) Novel Protein genes in Animal mtDNA: A New Sex Determination System in Freshwater Mussels. (Bivalvia: Unionoida), *Molecular Biology and Evolution*, 28:1645-1659.

Breton, S., Ghiselli, F., Passamonti, M., Milani, L., Stewart D.T., Hoeh, W.R. (2011b) Evidence for a fourteenth mtDNA-encoded protein in the female-transmitted mtDNA of marine mussels (Bivalvia: Mytilidae). *PLoS One*, 6:e19365.

Breton, S., Milani, L., Ghiselli, F., Guerra, D., Stewart, D.T., Passamonti, M. (2014) A resourceful genome: updating the functional repertoire and evolutionary role of animal mitochondrial DNAs. *Trends in Genetics*, 30:555-564.

Brown, K.M., Dennis Varza, D., Richardson, T.D. (1989) Life histories and population dynamics of two subtropical snails (Prosobranchia: Viviparidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 8:222-228.

Butler, P.G., Wanamaker, A.D., Scourse, J.D., Reynolds, D.J. (2013) Variability of marine climate on the North Icelandic Shelf in a 1357-year proxy archive based on growth increments in the bivalve *Arctica islandica*. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 373:141–151.

Campbell, N.A., Reece, J.B. (2001) *Biology*, Sixth Edition, Benjamin Cummings, p. 643.

Cao, L., Kenchington, E., Zouros, E. (2004) Differential segregation patterns of sperm mitochondria in embryos of the blue mussel (*Mytilus edulis*). *Genetics*, 166:883-894.

Cao, X., Wang, G., Li, J. (2012) Detection of the doubly uniparental inheritance in Chinese freshwater mussels through testing the gender-related cytochrome oxidase II gene. Unpublished.

Capt, C., Passamonti, M., Breton, S. (2016) The human mitochondrial genome may code for more than 13 proteins. *Mitochondrial DNA, A DNA Mappseq Anal*, 27:3098-3101.

Chakrabarti, R., Walker, J.M., Stewart, D.T., Trdan, R.J., Vijayaraghavan, S., Curole, J.P., Hoeh, W.R. (2006) Presence of a unique male-specific extension of C-terminus to the cytochrome c oxidase subunit II protein coded by the male-transmitted mitochondrial genome of *Venusta concha ellipsiformis* (Bivalvia: Unionoidea). *FEBS Letters*, 580:862–866.

Chakrabarti, R., Walker, J.M., Chapman, E.G., Shepardson, S.P., Trdan, R.J., Curole, J.P., Watters, G.T., Stewart, O.T., Vijayaraghavan, S., Hoeh, W.R. (2007). Reproductive function for a c-terminus extended, male-transmitted cytochrome c oxidase subunit II protein expressed in both spermatozoa and eggs. *FEBS Letters*, 581:5213-5219.

Chapman, E.G., Piontkivska, H., Walker, J.M., Stewart, D.T., Curole, J.P., Hoeh, W.R. (2008) Extreme primary and secondary protein structure variability in the chimeric male-transmitted cytochrome c oxidase subunit II protein in freshwater mussels: Evidence for an elevated amino acid substitution rate in the face of domain-specific purifying selection. *BMC Evolutionary Biology*, 8:165.

Charlesworth, B., Charlesworth, D. (1978) A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *American Naturalist*, 112:975–997.

Chesman, B.S., Langston, W. J. (2006) Intersex in the clam *Scrobicularia plana*: a sign of endocrine disruption in estuaries? *Biology Letters*, 2:420–422.

Chial, H., Craig, J. (2008) mtDNA and mitochondrial disease. *Nature Education*, 1:127.

Chinnery, F. (2014) Mitochondrial Disorders Overview. GeneReviews (eds.) Mitochondrial Encephalomyopathies, Mitochondrial Myopathies, Oxidative Phosphorylation Disorders, Respiratory Chain Disorders. University of Washington, Seattle, pages consultées 1-17.

Ciocan, C.M., Cubero-Leon, E., Peck, M.R., Langston, W.J., Pope, N., Minier, C., Rotchell, J.M. (2012) Intersex in *Scrobicularia plana*: Transcriptomic Analysis Reveals Novel Genes Involved in Endocrine Disruption. Environmental Science & Technology, 46:12936-12942.

Cogswell, A.T., Kenchington, E.L., Zouros, E. (2006) Segregation of sperm mitochondria in two and four-cell embryos of the blue mussel *Mytilus edulis*: implications for the mechanism of doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. Genome, 49:799–807.

Crain, M.J., Chernoff, M.C., Oleske, J.M., Brogly, S.B., Malee, K.M., Borum, P.R., Meyer, W.A., Mitchell, W.G., Moye, J.H., Ford-Chatterton, H.M., Van Dyke, R.B., Seage, G.R. (2010) Possible mitochondrial dysfunction and its association with antiretroviral therapy use in children prenatally infected with HIV. Journal of infectious Disease, 202:291-301.

Crothers, J.H. (1985) Dog-whelks: An introduction to the biology of *Nucella lapillus* (L.). Field Studies, 6:291-360.

Curole, J.P., Kocher, T.D. (2002) Ancient sex-specific extension of the cytochrome c oxidase II gene in bivalves and the fidelity of doubly-uniparental inheritance. Molecular Biology and Evolution, 19:1323–1328.

Dalziel, A.C., Stewart, D.T. (2002) Tissue-specific expression of male-transmitted mitochondrial DNA and its implications for rates of molecular evolution in *Mytilus* mussels (Bivalvia: Mytilidae). Genome, 45:348–355.

Davison, A. (2006) The ovotestis: an underdeveloped organ of evolution. Bioessays, 28:642–650.

Dégletagne, C., Abele, D., Held, C. (2016) A distinct mitochondrial genome with DUI-like inheritance in the ocean quahog *Arctica islandica*. Molecular Biology and Evolution, 33:375-383.

Devarapalli, P., Kumavath, R.N., Barh, D., Azevedo, V. (2014) The conserved mitochondrial gene distribution in relatives of *Turritopsis nutricula*, an immortal jellyfish. Bioinformation, 10:586-591.

Doucet-Beaupré, H., Breton, S., Chapman, E.G., Blier, P.U., Bogan, A.E., Stewart, D.T., Hoeh, W.R. (2010) Mitochondrial phylogenomics of the Bivalvia (Mollusca): searching for the origin and mitogenomic correlates of doubly uniparental inheritance of mtDNA.

BMC Evolutionary Biology, 10:50.

Ehsan, K., Bentlage, B., Collins, A.G., Kayal, M., Pirro, S., Lavrov, D.V. (2011) Evolution of Linear Mitochondrial Genomes in Medusozoan Cnidarians. *Genome Biology and Evolution*: Oxford Journals, 4:1-12.

Everett, E.M., Williams, P.J., Gibson, G., Stewart, D.T. (2004) Mitochondrial DNA polymorphisms and sperm motility in *Mytilus edulis* (Bivalvia: Mytilidae). *Journal of Experimental Zoology*, 301:906–910.

Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W.R., Lutz, R., Vrijenhoek, R.C. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3:294-299.

Garrido-Ramos, M.A., Stewart, D.T., Sutherland, B., Zouros, E. (1998) The distribution of male-transmitted and female-transmitted mitochondrial DNA types in somatic tissues of blue mussels: implications for the operation of doubly uniparental inheritance of the mitochondrial DNA. *Genome*, 1:818–824.

Gelman, A., Rubin, D.B. (1992) Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science*, 7:457–511.

Ghiselli, F., Milani, I., Chang, P.L., Hedgecock, D., Davis, J.P., Nuzdhin, S.V., Passamonti, M. (2012) De novo assembly of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* transcriptome provides new insights into expression bias, mitochondrial doubly uniparental inheritance and sex determination. *Molecular Biology and Evolution*, 29:771–786.

Ghiselli, F., Milani, L., Guerra, D., Chang, P.L., Breton, S., Nuzdhin, S.V., Passamonti, M. (2013) Structure, transcription, and variability of metazoan mitochondrial genome: perspectives from an unusual mitochondrial inheritance system. *Genome Biology and Evolution*, 5:1535–1554.

Giribet, G., Wheeler, W. (2002) On bivalve phylogeny: a high-level analysis of the Bivalvia (Mollusca) based on combined morphology and DNA sequence data. *Invertebrate Biology*, 121:271–324.

Giribet, G., Distel, D.L. (2003) Bivalve phylogeny and molecular data. *Molecular Systematics and Phylogeography of Mollusks*. Lydeard, C, Lindberg, D.R. (eds.), United States, Washington, pages consultées 45–90.

Gissi, C., Iannelli, F., Pesole, G. (2008) Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, 101:1-20.

González, V.L., Andrade, S.C.S., Bieler, R., Collins, T.M., Dunn, C.W., Mikkelsen P.M.,

Taylor J.D., Giribet G. (2015) A phylogenetic backbone for Bivalvia: an RNA-seq approach. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282:20142332.

Gosling, E. (2002) *Bivalve Molluscs, Biology, Ecology and Culture*. Fishing News Books. Blackwell Publishing (eds.). United Kingdom, Oxford, p.443.

Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O. (2010) SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution*, 27:221-224.

Grande, C., Templado, J., Zardoya, R. (2008) Evolution of gastropod mitochondrial genome arrangements. *BMC Evolutionary Biology*, 8:61.

Gray, M.W. (1998) Rickettsia, typhus and the mitochondrial connection. *Nature*, 396:109-110.

Gray, M.W., Burger, G., Lang, B.F. (1999) Mitochondrial evolution. *Science*, 283:1476–1481.

Gray, M.W., Gertraud, B., Franz Lang, B. (2001) The origin and early evolution of mitochondria. *Genome Biology*, 2.

Guantes, R., Diaz-Colunga, J., Iborra, F.J. (2015) Mitochondria and the non-genetic origins of cell-to-cell variability: More is different. *Bioessays*, 38:64-76.

Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59:307-21.

Guo, X., Allen, S.K. (1994) Sex determination and polyploid gigantism in the dwarf surfclam (*Mulinia lateralis* Say). *Genetics*, 138:1199-1206.

Hasegawa, M., Kishino, H., Yano, T. (1985). Dating of human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22:160–174.

Helm, M.M., Bourne, N. (2004) *Hatchery culture of bivalves: A practical manual*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Lovatelli, A. (eds.). Italie, Rome, p. 177.

Hoeh, W.R., Blakley, K.H., Brown, W.M. (1991) Heteroplasmy suggests limited biparental inheritance of *Mytilus* mitochondrial DNA. *Science*, 251:1488-1490.

Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Sutherland, B.W., Zouros, E. (1996) Multiple origins of gender-associated mitochondrial DNA lineages in bivalves (Mollusca: Bivalvia). *Evolution*, 50:2276-2286.

Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Saavedra, C., Sutherland, B.W., Zouros, E. (1997).

Phylogenetic evidence for role-reversals of gender-associated mitochondrial DNA in *Mytilus* (Bivalvia: Mytilidae). *Molecular Biology and Evolution*, 14:959–967.

Hoeh, W.R., Stewart, D.T., Guttman, S.I. (2002) High fidelity of mitochondrial genome transmission under the doubly uniparental mode of inheritance in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoidea). *Evolution*, 56:2252–2261.

Huang, X.C., Rong, J., Liu, Y., Zhang, M.H., Wan, Y., Ouyang, S., Zhou, C.H., Wu, X.P. (2013) The complete maternally and paternally inherited mitochondrial genomes of the endangered freshwater mussel *Solenia carinatus* (Bivalvia: Unionidae) and implications for Unionidae taxonomy. *PLoS One*, 8:e84352.

Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17:754-755.

Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F. (2005) Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. *Statistical Methods in Molecular Evolution*. Nielsen, R. (eds.) Springer-Verlag, pages consultées 183–232.

Hurst, L.D. (1992) Intragenomic conflict as an evolutionary force. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 248:135–140.

Katzourakis, A., Pereira, V., Tristem, M. (2007) Effects of recombination rate on human endogenous retrovirus fixation and persistence. *Journal of Virology*, 81:10712–10717.

Kenchington, E., MacDonald, B., Cao, L., Tsagkarakis, D., Zouros, E. (2002) Genetics of mother-dependent sex ratio in blue mussels (*Mytilus* spp.) and implications for doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. *Genetics*, 161:1579–1588.

Knoll, A.H., Javaux, E.J., Hewitt, D., Cohen, P. (2006) Eukaryotic organisms in Proterozoic ocean. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361:1023– 1038.

Kocot, K.M., Cannon, J.T., Todt, C., Citarella, C.M., Kohn, A.B., Meyer, A., Santos, S.R., Schander, C., Moroz, L.L., Lieb, B., Halanych K.M. (2011) Phylogenomics reveals deep molluscan relationships. *Nature*, 477:452–456.

Kohn, A.B., Citarella, M.R., Kocot, K.M., Bobkova, Y.V., Halanych, K.M., Moroz, L.L., (2012) Rapid evolution of the compact and unusual mitochondrial genome in the ctenophore *Pleurobrachia bachei*. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 63:203-207.

Kvist, L., Martens, J., Nazarenko, A.A., Orell, M. (2003) Paternal leakage of mitochondrial DNA in the great tit (*Parus major*). *Molecular Biology and Evolution*, 20:243-247.

Ladoukakis, E.D., Zouros, E. (2001) Direct evidence for homologous recombination in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*,

18:1168–1175.

Lambert, W.J., Corliss, E., Sha, J., Smalls, J. (2012) Trematode Infections in *Littorina littorea* on the New Hampshire Coast. *Northeastern Naturalist*, 19:461-474.

Lane, N., (2005) Power, sex, suicide. Mitochondria and the meaning of life. Oxford University Press (eds.), United States, New York, p. 422.

Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W., Guindon, S. (2012) Partitionfinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29:1695-1701.

Lang, B.F., Gray, M.W., Burger, G. (1999) Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, 33:351–397.

Layton, K.K.S., Martel, A.L., Hebert, P.D.N. (2014) Patterns of DNA Barcode Variation in Canadian Marine Molluscs. *PLoS One*, 9:1-9.

Lee, T., Foighil, D.O. (2004) Hidden Floridian biodiversity: mitochondrial and nuclear gene trees reveal four cryptic species within the scorched mussel, *Brachidontes exustus*, species complex. *Molecular Ecology*, 13:3527– 3542.

Lee, J.S., Lee, Y.G., Kang, S.W., Park, J.S., Lee, D.G., Jeon, M.A., Ju, S.M. (2010) Intersexuality of *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum* in Southern Coastal Waters of Korea. *Environmental Health & Toxicology*. 25:287-294.

Lee, C., Yen, K., Cohen, P. (2013) Humanin: a harbinger of mitochondrial-derived peptides? *Trends in Endocrinology Metabolism*, 24:222-228.

Lee, C., Zeng, J., Drew, B.G., Sallam, T., Martin-Montalvo, A., Wan, J., Kim, S.J., Mehta, H., Henever, A.L., De Cabo, R., Cohen, P. (2015) The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance. *Cell Metabolism*, 21:443-454.

Lewis, P.O. (2001) A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Systematic Biology*, 50:913-925.

Little, C.T.S., Vrijenhoek, R.C. (2003) Are hydrothermal vent animals living fossils? *Trends in Ecology Evolution*, 18:582–588.

Liu, H.P., Mitton J.B., Wu, S.K. (1996) Paternal mitochondrial DNA differentiation far exceeds maternal DNA and allozyme differentiation in the freshwater mussel *Anodonta grandis grandis*. *Evolution*, 50:952-957.

Lobo, J., Costa, P.M., Teixeira, M., Ferreira, M., Costa, M.H., Costa, F.O. (2013) Enhanced primers for amplification of DNA barcodes from a broad range of marine metazoans. *BMC*

Ecology, 13:34.

López-García, P., Moreira, D. (1999) Metabolic symbiosis at the origin of eukaryotes. *Trends in Biochemical Science*, 24:88–93.

Lunt, D.H., Hyman, B.C. (1997) Animal mitochondrial DNA recombination. *Nature*, 387(6630):247.

Machordom, A., Araujo, R., Toledo, C., Zouros, E., Ladoukakis, E.D. (2015) female-dependant transmission of paternal mtDNA is a shared feature of bivalve species with doubly uniparental inheritance (DUI) of mitochondrial DNA. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53:200-204.

Majamaa, K., Turkka, J., Kärppä, M., Wingvist, S., Hassinen, I.E. (1997) The common MELAS mutation A3243G in mitochondrial DNA among young patient with an occipital brain infarct. *Neurology*, 49(5):1331-4.

Margulis, L. (1981) *Symbiosis in cell evolution*, Freeman, W.H. (eds.), San Francisco.

Martin, W. Mentel, M. (2010) The origin of Mitochondria. *Nature Educations* 3:58.

Meyer, C.P. (2003) Molecular systematics of cowries ((Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. *Biological Journal of the Linnean Society*. 79:401-459.

Meusel, M.S. Moritz, R.F. (1993) Transfer of paternal mitochondrial DNA during fertilization of honeybee (*Apis mellifera* L.) eggs. *Current Genetics*, 24:539-543.

Mikhailov, A.T., Torrado, M., Mendéz J. (1995) sexual differentiation of reproductive tissue in bivalve molluscs: identification of male associated polypeptide in the mantle of *Mytilus galloprovincialis* lmk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 39:545-548.

Milani, L., Ghiselli, F., Passamonti, M. (2012) Sex-linked mitochondrial behavior during early embryo development in *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) a species with the Doubly Uniparental Inheritance (DUI) of mitochondria. *Journal of Experimental Zoology Part B*, 318:182–189.

Milani, L., Ghiselli, F., Guerra, D., Breton, S., Passamonti, M. (2013) A comparative analysis of mitochondrial ORFans: new clues on their origin and role in species with doubly uniparental inheritance of mitochondria. *Genome Biology and Evolution*, 5:1408-1434.

Milani, L., Ghiselli, F., Maurizii, M.G., Nuzdhin, S.V., Passamonti, M. (2014) Paternally transmitted mitochondria express a new gene of potential viral origin. *Genome Biology and Evolution*, 6:391-405.

Milani, L., Ghiselli, F., Passamonti, M. (2016) Mitochondrial selfish elements and the evolution of biological novelties. *Current Zoology*, 0:1-11.

Miller, F.J., Rosenfeldt, F.L., Zhang, C., Linnane, A.W., Nagley, P. (2003) Precise determination of mitochondrial DNA copy number in human skeletal and cardiac muscle by a PCR-based assay: lack of change of copy number with age. *Nucleic Acid Research*, 31:11e61.

Minoiu, I., Burzynski, A., Breton, S. (2016) Analysis of the coding potential of the ORF in the control region of the female-transmitted *Mytilus* mtDNA. *Gene*, 576:586-588.

Mishra, P., Chan, D.C. (2014) Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease. *Natural Review of Molecular and Cellular Biology*, 15:634–646.

Mitra, K. (2013) Mitochondrial fission-fusion as an emerging key regulator of cell proliferation and differentiation. *Bioessays*, 35:955–964.

Mock, K.E., Brim-Box, J.C., Miller, M.P., Downing, M.E., Hoeh, W.R. (2004) Genetic diversity and divergence among freshwater mussel (*Anodonta*) populations in the Bonneville Basin of Utah. *Molecular Ecology*, 13(5):1085–1098.

Morariu, V.I., Srinivasan, B.V., Raykar, V.C., Duraiswami, R., Davis, L.S. (2008) Automatic online tuning for fast Gaussian summation. *Advances in Neural Information Processing Systems (NIPS)*.

Morton, J.E. (1960) *Molluscs: An Introduction to their Form and Function*. Harper Textbooks (eds.), USA, New York, p. 232.

Morton, J.E. (1963) *Molluscs*, 2nd ed. Hutchinson University Library, London, p. 229.

Müller, K. (2005) SeqState - primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA datasets. *Applied Bioinformatics*, 4:65-69.

Naimi, A., Martinez, A.S., Mrac, A., Diss, B., Mathieu, M., Sourdain, P. (2009a) Identification and expression of a factor of the DM family in the oyster *Crassostrea gigas*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative physiology*, 152:189-196.

Naimi, A., Martinez, A-S., Specq, M.L., Diss, B., Mathieu, M., Sourdain, P. (2009b) Molecular cloning and gene expression of Cg-Foxl2 during the development and the adult gametogenetic cycle in the oyster *Crassostrea gigas*. *Comparative Biochemistry and*

Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 154: 134-142.

Nishimura, Y., Yoshinari, T., Naruse, K., Yamada, T., Sumi, K., Mitani, H., Higashiyama, T., Kuroiwa, T. (2006) Active digestion of sperm mitochondria DNA living sperm revealed by optical tweezers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., 103:1382–1387.

Obata, M., Komaru, A. (2005) Specific location of sperm mitochondria in mussel *Mytilus galloprovincialis* zygotes stained by mitotracker. Development Growth and differentiation, 47:255-263.

Ortiz-Zarragoitia, M., Cajaraville, M. P. (2010) Intersex and oocyte atresia in a mussel population from the Biosphere's Reserve of Urdaibai (Bay of Biscay). Ecotoxicology Environmental Safety, 73:693–701.

Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., Mcmillan, W.O., Stice, L. Grabowski, G. (1991) The Simple Fool's Guide to PCR, version 2.0. Honolulu. Department of Zoology and Kewalo Marine Laboratory, p.47.

Parakatselaki, M.E., Saavedra, C., Ladoukakis, E.D. (2015) Searching for Doubly Uniparental Inheritance of mtDNA in the apple snail *Pomacea diffusa*. Mitochondrial DNA, 28:1-3.

Passamonti, M. (2007). An unusual case of gender-associated mitochondrial DNA heteroplasmy: the mytilid *Musculista senhousia* (Mollusca Bivalvia). BMC Evolutionary Biology, 7Suppl2:S7.

Passamonti, M., Boore, J.L., Scali, V. (2003) Molecular evolution and recombination in gender-associated mitochondrial DNAs of the manila clam *Tapes philippinarum*. Genetics, 164:603-611.

Passamonti, M., Ghiselli, F. (2009) Doubly Uniparental Inheritance: Two mitochondrial genomes, one precious model for organelle DNA inheritance and evolution. DNA Cell Biology, 28:79-89.

Passamonti, M., and Scali, V. (2001) Gender-associated mitochondrial DNA heteroplasmy in the venerid clam *Tapes philippinarum* (Mollusca Bivalvia). Currents Genetics, 39:117–124.

Petoukhov, S., He, M. (2009) Symmetrical analysis techniques for genetic system and bioinformatics. Russian Academy of Sciences, pages consultées 53-54.

Pett, W., Ryan, J.F., Pang, K., Mulikin, J.C., Martindale, M.Q., Baxevanis, A.D., Lavrov, D.V. (2011) Extreme mitochondrial evolution in the ctenophore *Mnemiopsis leidyi*: insight from mtDNA and the nuclear genome. Mitochondrial DNA, 22:130-142.

Pfanner, N., Wiedemann, N. (2002) Mitochondrial protein import: two membranes, three translocases. *Cell Biology*, 14:400-411.

Plazzi, F. (2015) The detection of sex-linked heteroplasmy in *Pseudocardium sachalinense* (Bivalvia: Mactridae) and its implications for the distribution of doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53:205-210.

Plazzi, F., Cassano, A., Passamonti, M. (2014) The Quest for Doubly Uniparental Inheritance in heterodont bivalves and its detection in *Meretrix lamarckii* (Veneridae: Meretricinae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53:87-94.

Plazzi, F., Ceregato, A., Taviani, M., Passamonti, M. (2011) A Molecular Phylogeny of Bivalves, Ancient Radiations and Divergences as revealed by Mitochondrial Genes. *PLoS One*, 6:1-16.

Plazzi, F., Passamonti, M. (2010) Towards a molecular phylogeny of Mollusks: Bivalves early evolution as revealed by mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 57:641-657.

Quesada, H., Skibinski, D.A.G., Skibinski, D. O. F. (1996) Sex-biased heteroplasmy and mitochondrial DNA inheritance in the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Current Genetics*, 29:423-426.

Quesada, H., Warren, M., Skibinski, D.O.F. (1998) Non neutral evolution and differential mutation rate of gender-associated mitochondrial DNA lineages in the marine mussel *Mytilus*. *Genetics*, 149:1511-1526.

Rand, D.M., Haney, R.A., Fry, A.J. (2004). Cytonuclear coevolution: the genomics of cooperation. *Trends in Ecology and Evolution*, 19:645–653.

Roger, A.J. (1999) Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *American Naturalist*, 154:S146–S163.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van der Mark P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61:539–542.

Saavedra, C., Reyero, M.I., Zouros, E. (1997) Male-dependent Doubly Uniparental Inheritance of mitochondrial DNA and female-dependent sex ratio in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Genetics*, 145:1073-1082.

Sanko, T.J., Burzynski, A. (2014) Co-expressed mitochondrial genomes: recently masculinized, recombinant mitochondrial genome is co-expressed with the female-transmitted mtDNA genome in a male *Mytilus trossulus* mussel from the Baltic Sea. *BMC*

Genetics, 15:28.

Sato, M., Sato, K. (2013) Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Molecular Cell Research*, 313:1979-1984.

Shi, J., Hong, Y., Sheng, J., Peng, K., Wang, J. (2015) De novo transcriptome sequencing to identify the sex determination genes in *Hyriopsis schlegelii*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79:1257-1265.

Siv, G.E., Karlberg O., Canban, C.G. (2002) On the origin of mitochondria: a genomic perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society Part B: Biological Sciences*, 358:165–179.

Skibinski, D.O.F., Gallagher, C., Beynon, C.M. (1994) Sex-limited mitochondrial DNA transmission in the marine mussel *Mytilus edulis*. *Genetics*, 138:801–809.

Soroka, M. (2005) Genetic variability among freshwater mussel *Anodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia: Unionidae) populations recently introduced in Poland. *Zoological Science*, 22:1137–1144.

Soroka, M. (2008) Doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA in the freshwater bivalve *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionidae). *Folia Biologica (Krakow)*, 56: 91–95.

Soroka, M. (2010) Characteristics of mitochondrial DNA of unionid bivalves (Mollusca: Bivalvia: Unionidae). I. Detection and characteristics of doubly uniparental inheritance (DUI) of unionid mitochondrial DNA. *Folia Malacologia*, 18:147–188.

Santerre, C., Sourdain, P., Martinez, A.S. (2012) Expression of a natural antisense transcript of Cg-Foxl2 during the gonadic differentiation of the oyster *Crassostrea gigas*: first demonstration in the gonads of a lophotrochozoa species. *Sexual Development*, 6:210-221.

Scheffler, E. (2009) *Mitochondria*, 2nd edition, Wiley (eds.), p. 492.

Schwarz, G. (1978) Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics*, 6:461–464.

Selwood, L. (1968). Interrelationships between the developing oocytes and ovarian tissues in the chiton *Sypharochiton septentriones* (Ashby) (Mollusca, Polyplacophora). *Journal of Morphology*, 125:71–104.

Sharma, P., Zardus, J.D., Boyle E., González, V.L., Jennings R.M., McIntyre E., Wheeler, W.C., Etter R.J., Giribet, G. (2013) Into the deep: a phylogenetic approach to the bivalve subclass Protobranchia. *Molecular and Phylogenetic Evolution*, 69:188-204.

Shumway, S.E., Parson, J. (2016) *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*.

Elsevier (eds.), pages consultées 85-86.

Sichert-Ponten, T., Kurland, C. G., Andersson, S. G. E. (1998). A phylogenetic analysis of the cytochrome b and cytochrome c oxidase I genes supports an origin of mitochondria from within the Rickettsiaceae. *Biochemistry and Biophysics*, 1365:545–551.

Simmons, M.P., Ochoterena, H. (2000) Gaps as characters in sequence based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 49:369–381.

Smith, S.A., Wilson, N.G., Goetz, F.E., Feeher, C., Andrade, S.C.S., Rouse, G.W., Giribet, G., Dunn, C.W. (2011) Resolving the evolutionary relationships of mollusks with phylogenomic tools. *Nature*, 480:364-367.

Stamatakis, A. (2014) RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics*, 30:1312-1313.

Steinmetz, L.M., Scharfe, C., Deutschbauer, A.M., Mokranja, D., Herman Z.S. (2002) Systematic screen for human disease genes in yeast. *Nature Genetics*, 31:400-404.

Stenyakina, A., Walters, L.J., Hoffman, E.A., Calestani, C. (2010) Food availability and sex reversal in *Mytella charruana*, an introduced bivalve in the south-eastern United States. *Molecular Reproduction and Development*, 77:222-230.

Stewart D.T., Kenchington, E.R., Singh, R.K., Zouros, E. (1996) Degree of selective constraint as an explanation of the different rates of evolution of gender-specific mitochondrial DNA lineages in the mussel *Mytilus*. *Genetics*, 143:1349-1357.

Stewart, D.T., Saavedra, C., Stanwood, R.R., Zouros, E. (1995) Male and female mitochondrial DNA lineages in the blue mussel (*Mytilus edulis*) species group. *Molecular Biology and Evolution*, 12:735-747.

Stewart, D.T., Hoeh, W.R., Bauer, G., Breton, S. (2013) Mitochondrial Genes, Sex Determination and Hermaphroditism in Freshwater Mussels (Bivalvia: Unionoida). *Evolutionary Biology: Exobiology and Evolutionary Mechanisms*. Pontarotti, P. (eds.), Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, pages consultées 245–255.

Sutherland, B., Stewart, D.T., Kenchington, E.R., Zouros, E. (1998) The fate of paternal mitochondrial DNA in developing female mussels, *Mytilus edulis*: Implications for the mechanism of doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA. *Genetics*, 148:341-347.

Swofford, D.L. (2001) PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods), version 4.0b6. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30:2725-

2729.

Tavaré, S. (1986) Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequences. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences*. American Mathematical Society, 17:57–86.

Taylor, R.W., Turnbull, D.M. (2005) Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6:389-402.

Taylor, E.B., Rutter, J. (2011) Mitochondrial quality control by the ubiquitin-proteasome system. *Biochemical Society Transactions*, 39:1509-1513.

Teaniniuraitemoana, V., Leprêtre, M., Levy, P., Vanaa, V., Parrad, S., Gaertner-Mazouni, N., Gueguen, Y., Huvet, A., Le Moullac, G. (2016) Effect of temperature, food availability, and estradiol injection on gametogenesis and gender in the pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Journal of Experimental Zoology*, 325A:13-24.

Terranova, M.S., Lo Brutto, S., Arculeo, M., Mitton, J.B. (2007) A mitochondrial phylogeography of *Brachidontes variabilis* (Bivalvia, Mytilidae) reveals three cryptic species. *Journal of Zoological Systematic and Evolutionary Research*, 45:289–298.

Theologidis, I., Saavedra, C., Zouros, E. (2007) No evidence for absence of paternal mtDNA in male progeny from pair matings of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Genetics*, 176: 1367-1369.

Theologidis, I., Fodelianakis, S., Gaspar, M.B., Zouros, E. (2007) Doubly Uniparental Inheritance (DUI) of Mitochondria DNA in *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) and the Problem of its Sporadic Detection in Bivalvia. *Evolution*, 62:959-970.

Thiriou-Quévieux, C. (2003) Advances in chromosomal studies of gastropod molluscs *Journal of Molluscan Studies*, 69:187-202.

Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research*, 22:4673-4680.

Vargas, J., Pérez, M., Toro, J., Astorga, M.P. (2015) Presence of two mitochondrial genomes in the mytilid *Perumytilus purpuratus*: Phylogenetic evidence for doubly uniparental inheritance. *Genetic and Molecular Biology*, 38:173–181.

Walker, J. M., Curole, J.P., Wade, D.E., Chapman, E.G., Bogan, A.E., Watters G.T., Hoeh, W.R. (2006) Taxonomic distribution and phylogenetic utility of gender-associated mitochondrial genomes in the Unionoida: Bivalvia. *Malacologia*, 48:265-282.

Wang, C., Croll R.P. (2004) Effects of sex steroids on gonadal development and gender determination in the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Aquaculture*, 238:483-498.

Weeks, S.C. (2012) The role of androdioecy and gynodioecy in mediating evolutionary transitions between dioecy and hermaphroditism in the Animalia. *Evolution*, 66:3670-86.

Werren, J.H., Beukeboom, L.W. (1998) Sex determination, sex ratios and genetic conflict. *Annual Review of Ecology Systematic*, 29:233–261.

White, T.R., Conrad, M.M., Tseng, R., Balayan, S., Golding, R., De Frias Martins, A.M., Dayrat, B.A. (2011) Ten new complete mitochondrial genomes of pulmonates (Molluscas: Gastropoda) and their impact on phylogenetic relationships. *BMC Evolutionary Biology*, 11:295.

Wilson, N.G., Rouse, G.W., Giribet, G. (2010) Assessing the molluscan hypothesis Serialia (Monoplacophora + Polyplacophora) using novel molecular data. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 54:187–193.

Winzeler, E.A., Shoemaker D.D., Astromoff, A., Liang, H., Anderson, K. (1999) Functional characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* genome by gene deletion and parallel analysis. *Science*, 285:901-906.

Wolff, J.N., Ladoukakis, E.D., Enriquez, J.A., Dowling, D.K. (2014) Mitonuclear interactions: evolutionary consequences over multiple biological scales. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 369:20130443.

Wu, W., Schmidt, T.R., Grossman, M. (2000) Molecular evolution of cytochrome c oxidase subunit 1 in Primates: is there a coevolution between mitochondrial and nuclear genomes? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17:294-304.

Yonge, C.M., Thompson, T.E. (1976) *Living Marine Molluscs*. Will Collins, Sons and Co. Ltd (eds.), Glasgow, p. 288.

Zhao, X., Li, N., Guo, W., Hu, X., Liu, Z., Gong, G., Wang, A., Feng, J., Wu, C. (2004) Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Heredity*, 93:399-403.

Zouros E. (2000) The exceptional mitochondrial DNA system of the mussel family Mytilidae. *Genes and Genetic System*, 75:313–318.

Zouros, E. (2013) Biparental inheritance through uniparental transmission: the Doubly Uniparental Inheritance (DUI) of mitochondrial DNA. *Evolutionary Biology* 40:1-31.

Zouros, E., Ball, A.O., Saavedra, K., Freeman, R. (1994a) An unusual type of mitochondrial DNA inheritance in the blue mussel *Mytilus*. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.*, 91:7463-7467.

Zouros, E., Ball, A.O., Saavedra, K., Freeman, R. (1994b) Mitochondrial DNA inheritance. *Nature*, 368:817.

Zouros, E., Freeman, R., Ball, A.O., Pogson, G.H. (1992) Direct evidence for extensive paternal mitochondrial DNA inheritance. *Nature*, 359:412-414.

Zwaan, A., Mathieu, M., (1992) Cellular biochemistry and endocrinology. The mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and aquaculture, E. M. Gosling (eds.). Amsterdam, Elsevier. p. 589.

ANNEXES

Annexe 1: Tableaux supplémentaires

Table SI Nucleotide Pairwise-distance for each marker and species.

Species	<i>cox1</i>			<i>rrnL</i>		
	F	M	F/M	F	M	F/M
<i>Cerastoderma edule</i>	0.0042 ±0.0024	0.0000 ±0.0000	0.0028 ±0.0016	0.0018 ±0.0017	0.0043 ±0.0024	0.0041 ±0.0017
<i>Musculus discors</i>	n/a n/a	n/a n/a	n/a n/a	0.0084 ±0.0033	0.0135 ±0.0049	0.0092 ±0.0028
<i>Scrobicularia plana</i>	0.0067 ±0.0034	0.0020 ±0.0014	0.0965 ±0.0074	n/a n/a	n/a n/a	n/a n/a
<i>Yoldia hyperborea</i>	0.0014 ±0.0008	0.0000 ±0.0000	0.0596 ±0.0079	n/a n/a	n/a n/a	n/a n/a

Note - Standard errors are given under *p*-distance value. Bold number indicate significant value for the presence of DUI. F : intrafemale divergence; M : intramale divergence; F/M: Divergence between males and females.

Table SII. Amino acid Pairwise-distance for each marker and species.

Species	<i>cox1</i>		
	F	M	F/M
<i>Cerastoderma edule</i>	0.0036 ±0.0034	0.0000 ±0.0000	0.0026 ±0.0024
<i>Musculus discors</i>	n/a n/a	n/a n/a	n/a n/a
<i>Scrobicularia plana</i>	0.0072 ±0.0070	0.0000 ±0.0000	0.0659 ±0.0100
<i>Yoldia hyperborea</i>	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0454 ±0.0124

Note - Standard errors are given under *p*-distance value. Bold number indicate significant value for the presence of DUI. F : intrafemale divergence; M : intramale divergence; F/M: Divergence between males and females.

Table SIII. List of the best fitting-models for the nucleotide phylogenetic analyses according to BIC value. The lower the BIC value, the better the model fits with the data. AIC, Akaike Information Criterion; BIC, Bayesian Information Criterion; INL, Natural log likelihood.

Model	INL	AIC	AICc	BIC
TIM+I+G	-27348.31368	54712.62736	54712.8677607	54747.9087591
TrN+I+G	-27355.2452	54724.4904	54724.6770667	54755.3616242
GTR+I+G	-27347.43909	54714.87818	54715.2466892	54758.9799288
K81uf+I+G	-27396.63346	54807.26692	54807.4535867	54838.1381442
HKY+I+G	-27404.24135	54820.4827	54820.6224671	54846.9437493
TVM+I+G	-27394.99722	54807.99444	54808.2954433	54847.6860139
TIM+G	-27405.78878	54825.57756	54825.7642267	54856.4487842
TrN+G	-27411.62272	54835.24544	54835.3852071	54861.7064893
GTR+G	-27404.69273	54827.38546	54827.6864633	54867.0770339
K81uf+G	-27446.11864	54904.23728	54904.3770471	54930.6983293
HKY+G	-27453.17046	54916.34092	54916.4405878	54938.3917944
TVM+G	-27444.83693	54905.67386	54905.9142607	54940.9552591
SYM+I+G	-27909.2377	55832.4754	55832.6620667	55863.3466242
SYM+G	-27971.29972	55954.59944	55954.7392071	55981.0604893
TrNef+I+G	-28018.26796	56044.53592	56044.602255	56062.1766195
TIMEf+I+G	-28018.26073	56046.52146	56046.6211278	56068.5723344
TrNef+G	-28081.77954	56169.55908	56169.5988151	56182.7896046
TIMEf+G	-28081.73505	56171.4701	56171.536435	56189.1107995
TVMef+I+G	-28126.97001	56265.94002	56266.0797871	56292.4010693
TVMef+G	-28179.47161	56368.94322	56369.0428878	56390.9940944
K80+I+G	-28232.49492	56470.98984	56471.0295751	56484.2203646
K81+I+G	-28232.47155	56472.9431	56473.009435	56490.5837995
K80+G	-28286.95197	56577.90394	56577.9237747	56586.7242898
K81+G	-28286.9476	56579.8952	56579.9349351	56593.1257246
F81+I+G	-29494.62578	58999.25156	58999.3512278	59021.3024344
F81+G	-29549.26104	59106.52208	59106.588415	59124.1627795
JC+I+G	-29606.96222	59217.92444	59217.9442747	59226.7447898
JC+G	-29657.59725	59317.1945	59317.2011007	59321.6046749
SYM+I	-30205.50541	60423.01082	60423.1505871	60449.4718693
GTR+I	-30244.99657	60507.99314	60508.2941433	60547.6847139
TIM+I	-30346.90562	60707.81124	60707.9979067	60738.6824642
TrN+I	-30350.58853	60713.17706	60713.3168271	60739.6381093

TVM+I	-30436.74696	60889.49392	60889.7343207	60924.7753191
TrNef+I	-30494.24549	60994.49098	60994.5307151	61007.7215046
TIMef+I	-30494.16869	60996.33738	60996.403715	61013.9780795
TVMef+I	-30516.54577	61043.09154	61043.1912078	61065.1424144
K81uf+I	-30543.65254	61099.30508	61099.4448471	61125.7661293
HKY+I	-30548.21657	61106.43314	61106.5328078	61128.4840144
K80+I	-30799.77759	61603.55518	61603.5750147	61612.3755298
K81+I	-30799.56789	61605.13578	61605.1755151	61618.3663046
JC+I	-32005.11367	64012.22734	64012.2339407	64016.6375149
F81+I	-32145.88992	64299.77984	64299.846175	64317.4205395
SYM	-32172.57059	64355.14118	64355.2408478	64377.1920544
GTR	-32309.9915	64635.983	64636.2234007	64671.2643991
TIM	-32419.87145	64851.7429	64851.8826671	64878.2039493
TrN	-32427.1851	64864.3702	64864.4698678	64886.4210744
TVMef	-32467.34254	64942.68508	64942.751415	64960.3257795
TrNef	-32491.4662	64986.9324	64986.9522347	64995.7527498
TIMef	-32490.40571	64986.81142	64986.8511551	65000.0419446
TVM	-32524.97601	65063.95202	65064.1386867	65094.8232442
K81uf	-32641.29106	65292.58212	65292.6817878	65314.6329944
HKY	-32649.67244	65307.34488	65307.411215	65324.9855795
K80	-32786.48039	65574.96078	65574.9673807	65579.3709549
K81	-32785.15545	65574.3109	65574.3307347	65583.1312498
JC	-33919.74979	67839.49958	67839.49958	67839.49958
F81	-34124.66017	68255.32034	68255.3600751	68268.5508646

Annexe 2: Figures supplémentaires

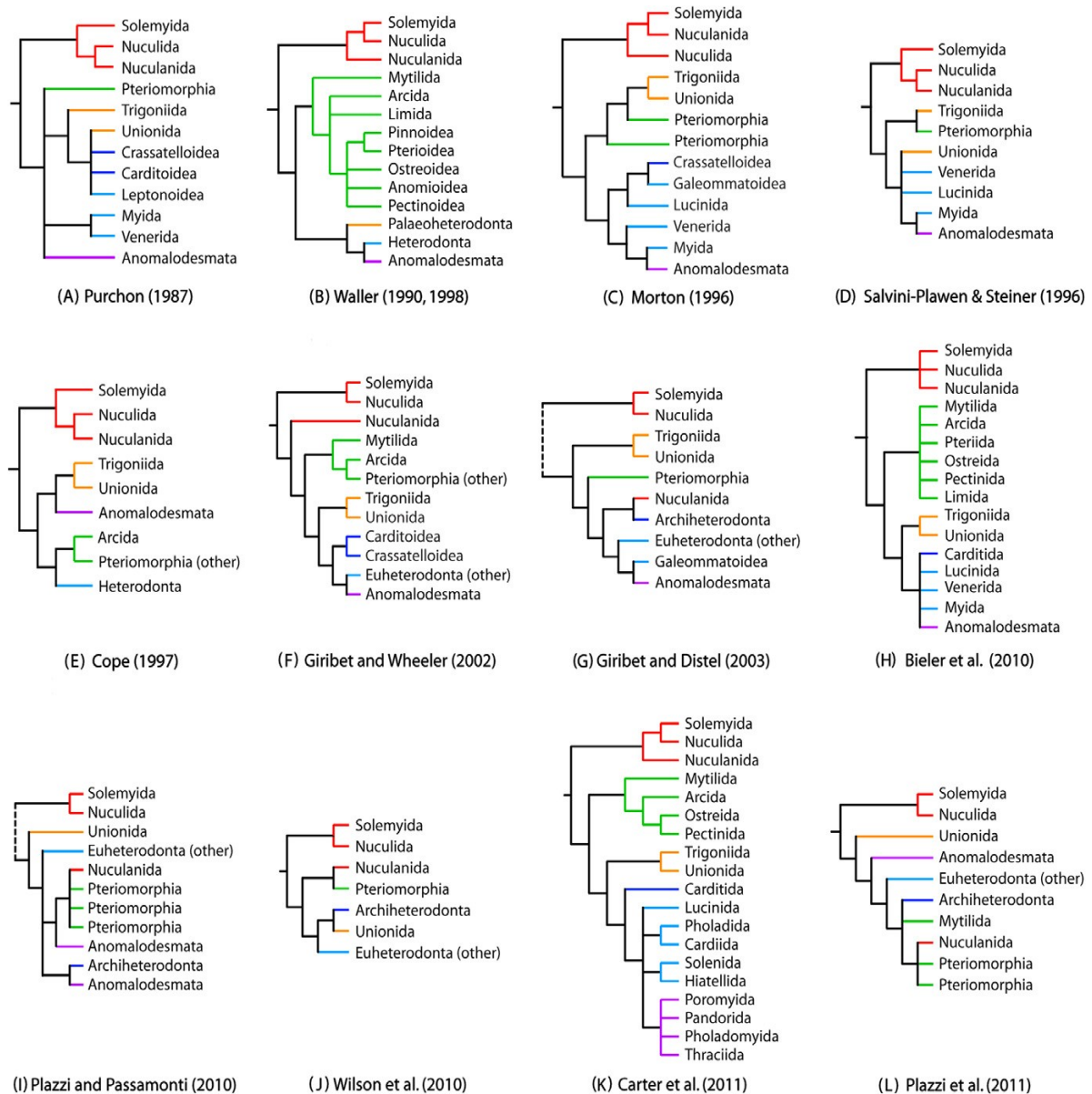


Figure S1. Les relations phylogénétiques chez les bivalves proposées par différents auteurs. Les cinq premières phylogénies sont basées sur des critères morphologiques (A,B,C,D,E). (F) Classification basée à la fois sur la morphologie et trois marqueurs moléculaires (*ARNr 18S*, *ARNr 28S*, *Cox1*). (G) Classification basée sur quatre marqueurs moléculaires (*ARNr 18S*, *ARNr 28S*, *Cox1*, *histone H3*). (H) Classification consensus. (I) Classification basée sur l'analyse bayésienne de quatre marqueurs moléculaires (*ARNr 12S*, *ARNr 16S*, *Cox1*, *CytB*). (J) Classification basée sur l'analyse bayésienne de quatre marqueurs moléculaires (*ARNr 16S*, *ARNr 18S*, *ARNr 28S*, *Cox1*, *histone H3*). (K) Classification consensus. (L) Classification basée sur l'analyse bayésienne de quatre

marqueurs moléculaires (*ARNr 12S*, *ARNr 16S*, *Cox1*, *CytB*). Les couleurs correspondent aux grandes lignées de bivalves (rouge: Protobranchia; vert: Pteriomorphia; orange: Palaeoheterodonta; indigo: Archiheterodonta; violet: Anomalodesmata; bleue: Euheterodonta restant).

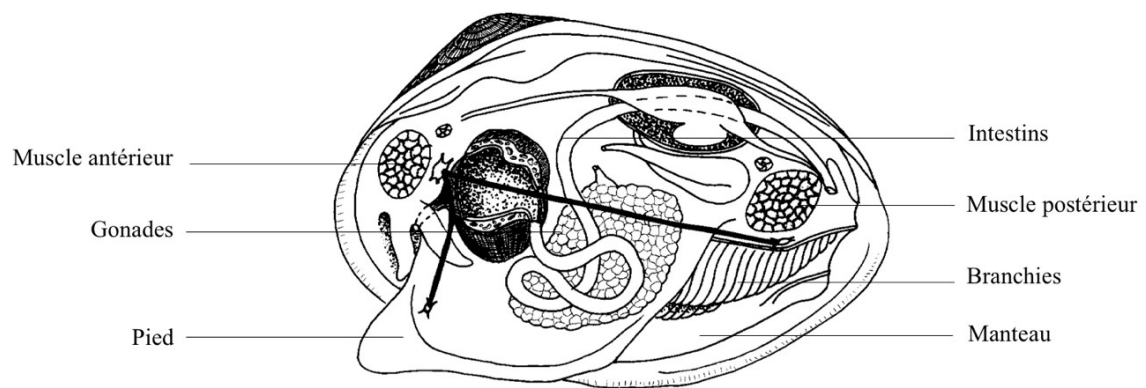


Figure S2. Anatomie interne des bivalves.

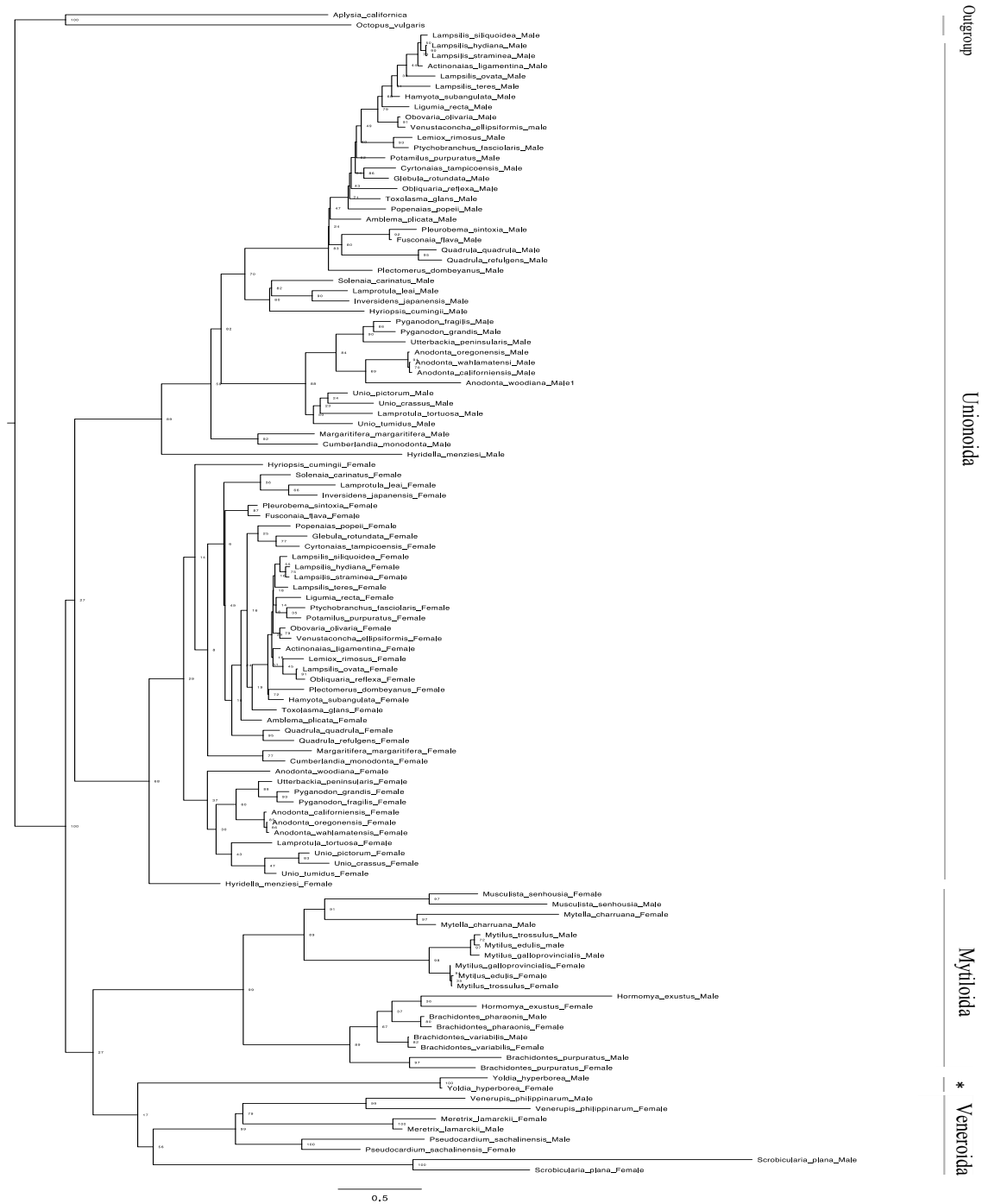


Figure S3. Maximum Likelihood Phylogenetic tree of bivalve mitochondrial *cox1* partial sequences based on an analysis using the GTR+I+G model. Bootstrap support appears next to each node. *: Nuculanoida.

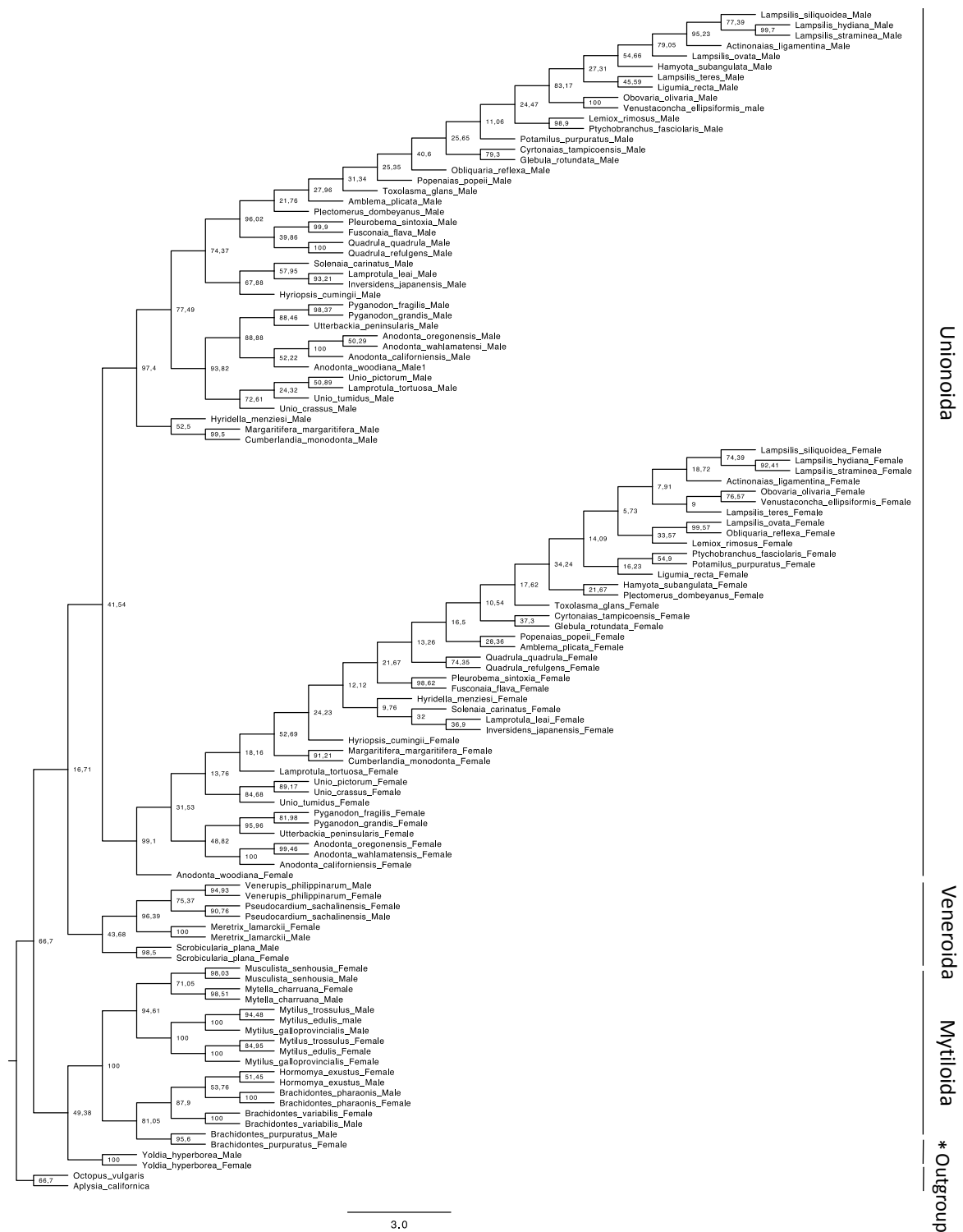


Figure S4. Maximum parsimony 50% majority-rule consensus tree obtained from *cox1* gene partial sequences. Values at each node show MP bootstrap support. * : Nuculanoida.

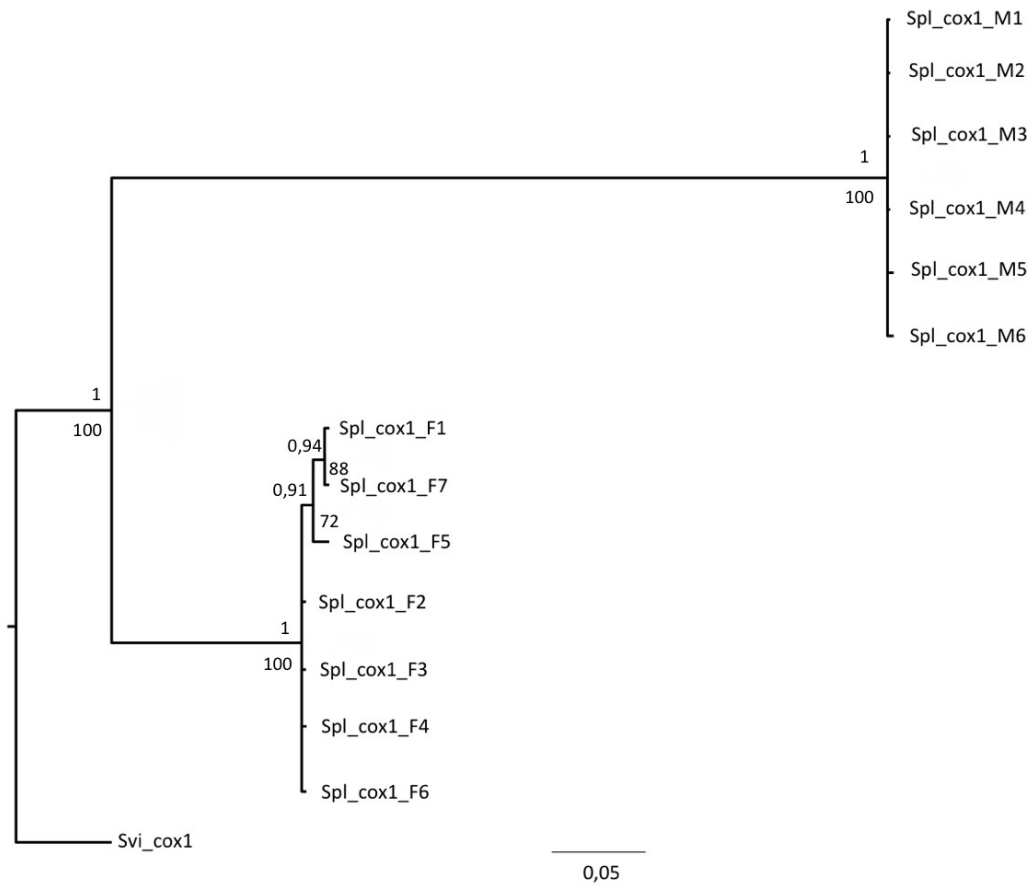


Figure S5. Phylogenetic tree based on *cox1* partial sequences of *Scrobicularia plana*. Numbers above the branches indicate the posterior probability determined from the Bayesian analyses and numbers below the branches refer to the bootstrap value estimated from the maximum-likelihood phylogeny. *Soletellina virescens* was used as outgroup.

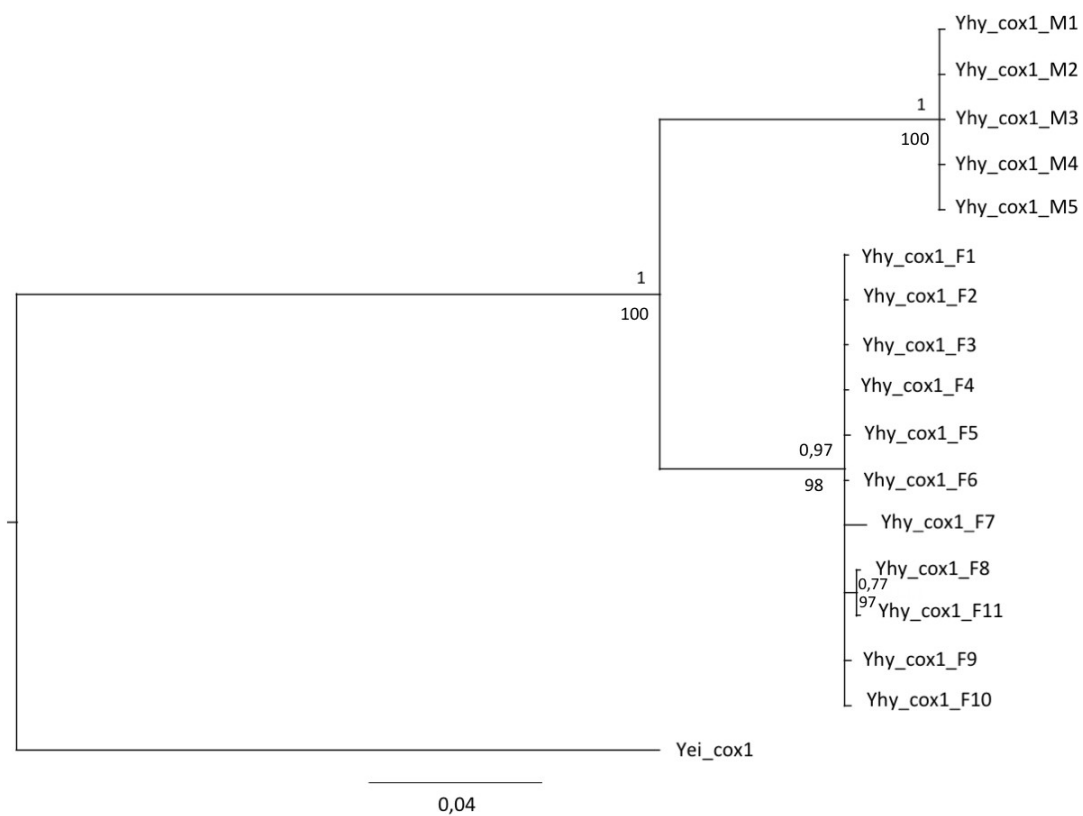


Figure S6. Phylogenetic tree based on *cox1* partial sequences of *Yoldia hyperborea*. Numbers above the branches indicate the posterior probability determined from the Bayesian analyses and numbers below the branches refer to the bootstrap value estimated from the maximum-likelihood phylogeny. *Yoldia eightsii* was used as outgroup.

Porlandia Arctica

>B462G_COXI

GTTTAATATGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAG
GTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACTTCCCCCAAAGAAACA
CGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTCGT
CATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACTTGCAACGAA
AAAATAACTAAATCT

>B438S_COXI

GCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAGGTAAAGAG
AATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACATCCCCCAAAGAAACACGGGCATC
CGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGTCATAAAATT
TAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAAAAAATAACT
AAATCTATAGCCGGTGAAGAGTTAAAACCAACAGAAGAAAGCGGCGGATAA
AGGGTTCAACCCCTACCGGCTCCGCCCTC

>B437G_COXI

CGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAGGTAAAGAGAA
TAATAATAATCAAGAAGTAACAAACATCCCCCAAAGAAACACGGGCATCCG
CTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGTCATAAAATTTA
GGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAAAAAATAACTAA
ATCTATAGCCGGTGAAGAGTGAAAACCAACAGAAGAAAGCGGCGGATAAAG
GGTTCAACCCCTACCGGCTCCGCCCTCAATCAAACCAGAACTAACAGCATA
AACATGGGACCCGGAATTAGCCAAAACCTT

>B437S_COXI

AAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACTTCCCCCAAAGAAACACG
GGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGTCAT
AAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAAAAA
ATAACTAAATCTATAGCCGGTGAAGAGTGAAAACCAACAGAAGAAAGCGGC
GGATAAAGGGTTCAACCCCTACCGGCTCCGCCCTCAATCAAACCAGAACTA
ACAGCATAAACTTGGGACCCGGA

>B462S_COXI

GTTTAATATGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAG
GTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACATCCCCCAAAGAAACA
CGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTCGT
CATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAA
AAAATAACTAAATCTAT

>B461G_COXI

GTTTAAGTGGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACA
GGTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACTTCCCCCAAAGAAAC
ACGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTG
TCATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGA

AAAAATAACTAAATCTTTAGCCGGTGAAGAGTGAAAACCAACAGAAGAAAG
CGGCGGATAA

>B461S_COXI

GTTTAATGTGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAG
GTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACCTCCCCCAAAGAAACA
CGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGT
CATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAA
AAAATAACTAA

>B457G_COXI

GTTTANTATGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAG
GTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACATCCCCCAAAGAAACA
CGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGT
CATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAA

>B457_COXI

GTTTAATTTGCCGATCAGTTAATTAACATAGTTCAAACCCCCAGCTAACACAG
GTAAAGAGAATAATAATAATCAAGAAGTAACAAACTTCCCCCAAAGAAACA
CGGGCATCCGCTCTGCAATTATACCCCAAATCGACAACAAACAATTGTTGT
CATAAAATTTAGGGATCTTATAATAGAGCCAAAACCTGCTACATGCAACGAA
AAAATAACTAAATCTATNACCGGTGAAGAGTGAAAACC

Cerastoderma edule

>B116G_16S

TCGCCTGTTTATCAAAAACATCTCTTCCTGAGTTTAATAGGAAGTAGGCCCTG
CTAATTGCTAATGATAAAAGCGGATTTCCCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCC
TTTAATTGGGGTCCGGCTATGAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTG
GAATATATTGAACTTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTAAAAGAC
GAGAAGACCCCGTCGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTT
TAATTGGGGCAATTGCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATT
ACTTATGAATAAAGAAAAAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGACCGCTTT
AGAGGCCTTATCGACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTAC
TTTAGGCGCAGAAGCTAAATAA

>B119G_16S

AAACATCTCTTCCTGAGTTTAATAGGAAGTAGGCCCTGCTAATTGCTAATGA
TAAAAGCGGATTTCCCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGGTCC
GGCTATGAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTGAAC
TTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTAAAAGACGAGAAGACCCCGT
CGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTTAATTGGGGCAATT
GCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAA
GAAAAGCTACCGCGGGGATAACCGCGCAAGACCGCTTTAGAGGCCTTATCG

ACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGA
AGCTAAATAA

>B273S_16S

GCGGATTTCCCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGGTCCGGCTA
TGAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTGAACTTTTCT
TCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTTAAAAGACGAGAAGACCCCGTCGAGC
TTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTTAATTGGGGCAATTGCGG
AAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAAGAAA
AAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTATCGACGG
CAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGAAGCTA
AATAAGGGGGCTCCCCA

>B275S_16S

TGATAAAAGCGGATTTCCCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGG
TCCGGCTATGAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTG
AACTTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTTAAAAGACGAGAAGACC
CCGTCGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTTAATTGGGGC
AATTGCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAAT
AAAGAAAAAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTA
TCGACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCA
GAAGC

>B276S_16S

CGGATTTCCCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGGTCCGGCTAT
GAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTGAACTTTTCTT
CTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTTAAAAGACGAGAAGACCCCGTCGAGCT
TGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTTAATTGGGGCAATTGCGGA
AAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAAGAAAA
AGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTATCGACGGC
AATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGAAGC

>B116G_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTGCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGTTGAATAA
TTTGAGTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATTTTTATTGTTAAGCTCTTCTTTG
GTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGGTTTACCCACCATTGTCTGGTA
ATGTGGCTCATTCTGGTGCTTCGGTGGATTTGGCCATTTTTNCTTTACACCTTG
CTGGTGCTTCTTCTATTTTGGGGGCTATTAATTTTATTTCTACTGTTGGAAATA
TGCGGTCCCCTGGATTAGTTGCTGAGCGAATTCCTTTGTTTGTGTGGGCTGTT
AACGGTGACAGCGGTTTTGCTGGTTGCAGCATTGCCTGTTTTGGCTGGTGCTA
TTACAATATTGCTTACTGATCGTAATATCAATACGTCTTTTTTT

>B118G_COXI

TTGCGTGGCATGTGACTGGTTAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTCTGGG
CTGAGTTAGGACAACCCGGTAGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGT
AATTGTAACGGCACATGCTTTTATAATAATTTTCTTTTGGTTATGCCAATAAT
GATTGGTGGTTTTGGTAATTGGCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATAT
GGCTTTTCCTCGGTGAATAATTTGAGTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATT
TTTATTGTTAAGCTCTTCTTTGGTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGG
TTTACCCACCATTGTCTGGTAATGTGGCTCATTCTGGTGCTTCNGTGGATTTG
GCCATTTTTTCTTTACACCTTGCTGGNGCTTCTTCTATTTTGGGGGCTATTAAT
TTTATTTC

>B119G_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTCTGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGTGAATAA
TTTGAGTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATTTTATTGTTAAGCTCTTCTTTG
GTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGGTTTACCCACCATTGTCTGGTA
ATGTGGCTCATTCTGGTGCTTC

>B117G_16S

TCGCCTGTTTATCAAAAACATCTCTTCCTGAGTTTAATAGGAAGTAGGCCCTG
CTAATTGCTAATGATAAAAGCGGATTTCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCC
TTTAATTGGGGTCCGGCTATGAATGGGTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTG
GAATATATTGAACTTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTAAAAGAC
GAGAAGACCCCGTCGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATT
TAATTGGGGCAATTGCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATT
ACTTATGAATAAAGAAAAAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTT
AGAGGCCTTATCGACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTAC
TTTAGGCGCAGAAGCTAAATAAGTGGGGCTGTTC

>B121G_16S

GAGTTTAATAGGAAGTAGGCCCTGCTAATTGCTAATGATAAAAGCGGATTTCT
CTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGGTCCGGCTATGAATGGGT
TGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTGAACTTTTCTTCTCGGTGA
AAAGACCGCGCTTCTGTAAAAGACGAGAAGACCCCGTCGAGCTTGAATGAA
GCTTCCACTATGGTAGCCGAAATTTTAATTGGGGCAATTGCGGAAAAGATAA
CCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAAGAAAAAGCTACCGC
GGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTATCGACGGCAATAATTGC
GACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGAAGCTAAATAA

>B274S_16S

GCGGATTTCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTTTAATTGGGGTCCGGCTA
TGAATGGGTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGGAATATATTGAACTTTTCT
TCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTAAAAGACGAGAAGACCCCGTCGAGC
TTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAGCCGAAATTTTAATTGGGGCAATTGCGG
AAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAAGAAA

AAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTATCGACGG
CAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGAAGC

>B272S_16S

TATTGCTAATGATAAAAGCGGATTTCTTAATGTAGCGTGATAAATTGGCCTT
TAATTGGGGTCCGGCTATGAATGGGTTGACGATAGAAAAGCTGTCTCATTGG
AATATATTGAACTTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTTAAAAGACG
AGAAGACCCCGTCGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTT
AATTGGGGCAATTGCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATT
ACTTATGAATAAAGAAAAAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTT
AGAGGCCTTATCGACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTAC
TTTAGGCGCAGAAGCTAAATAA

>B277S_16S

TTTTCTTCTCGGTGAAAAGACCGCGCTTCTGTTAAAAGACGAGAAGNCCCCGT
CGAGCTTGAATGAAGCTTCCACTATGGTAACCGAAATTTTAATTGGGGCAATT
GCGGAAAAGATAACCTCCGCTTTTATGTGAGGATCCATTACTTATGAATAAA
GAAAAAGCTACCGCGGGGATAACAGCGCAAGATTGCTTTAGAGGCCTTATCG
ACGGCAATAATTGCGACCTCGATGTTGGATTAAGGTTACTTTTAGGCGCAGA
AGCTAAATAA

>B117G_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTTCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGTTGAATAA
TTTGAGTTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATTTTTATTGTAAAGCTCTTCTTG
GTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGGTTTACCCACCATTTGTCTGGTA
ATGTGGCTCATTCTGGTGCTTCGGTGGATTTGGCCATTTTTTCTTTACACCTTG
CTGGTGCTTCTTCTATTTTGGGGGCTATTAATTTTATTTCTACTGTTGGAAATA
TGCGGTCCCCTGGATTAGTTGCTGAGCGAATTCCTTTGTTTGTGTGGGCTGTT
AACGGTGACAGCGGTTTTGCTGGTTGCAGCATTGCCTGTTTTGGCTGGTGCTA
TTACAATATTGCTTACTGATCGTAATATCAATACGTCTTTTTTT

>B120S_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTTCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGTTGAATAA
TTTGAGTTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATTTTTATTGTAAAGCTCTTCTTG
GTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGGTTTACCCACCATTTGTCTGGTA
ATGTGGCTCATTCTGGTGCTTC

>B121G_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTTCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT

TATAATAATTTTCTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGTTGAATAA
TTTGAGTTTTTGATTATTAGTGCCGGCTTTATTTTATTGTAAAGCTCTTCTTTG
GTGGAAAGTGGTGTGGGACTGGGTGGACGGTTTACCCACCATTTGTCTGGTA
ATGTGGCTCATTCTGGTGCTTC

>B274S_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTTCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCACGGTTGAATA
ATT

>B272S_COXI

TAATTGGTTTGGCTTTGAGCCTTTTGATTTCGGGCTGAGTTAGGACAACCCGGT
AGGTTGTTGGGGGATGATCAGTTATATAATGTAATTGTAACGGCACATGCTTT
TATAATAATTTTCTTTTTGGTTATGCCAATAATGATTGGTGGTTTTGGTAATTG
GCTTATTCCTCTTATAATTGGGGCTCCTGATATGGCTTTTCCCTCGGTTGAATAA
TTTGAGTTTTTGATTATTAATGCCAGCTTTATTTTATTG

Ensis directus

>B28G_16S

GTGGGCTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTG
CTAAGGTAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTT
GACGTGGTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTA
AAAGTCTCAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAA
TTGTAAAGAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATA
AATAGTTCTTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTA
CCGCAGGGATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGT
TTGCGACCTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAG
TAGGACTGTTTCGTCCTTTAAAACTTTACGTGATCTGAGTCCC

>B28S_16S

GCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGCCT
GCCCCGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGGTA
GCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTGGT
AGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCTCA
AATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAAATTGTAAAGA
GTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTCTT
TGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGGGA
TAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTTCGACCT
CGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACTGT
TCGTCCTTTAAAACTTTACGTGATCTGAGTCC

>B29S_16S

TTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGCCTGCCCC
GTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGGTAGCGTA
ATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTGGTAGTTTC
TGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCTCAAATTT
AGATAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAAGAGTTTT
TATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTCTTTGTTA
TTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGGGATAACA
GCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGACCTCGATG
TTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACTGTTTCGTC
CTTTAAACTTTACGTGATCTGAGTTCCAGACCGGA

>B29G_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACT
GTTTCGTCCTTTAAACTTTACGTGATCTGAGTTCCAGACCGGA

>B30S_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACT
GTTTCGTCCTTTAAACTTTACGTGATCTGAGTTC

>B30G_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC

CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACT
GTTTCGTCCTTTAAAACTTTACGTGATCTGAGTTCCAGACCGGA

>B31S_16S

CGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGCC
TGCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGGT
AGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTGG
TAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCTC
AAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAAG
AGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTCT
TTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGGG
ATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGACC
TCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCTAAAATAGTAGGACTG
TTCGTCCTTTAAAACTTTACGTGATCTGAGTTCA

>B31G_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTC

>B32G_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGC

>B33S_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG

GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCAGCT

>B33G_16S

TCGCCTGTTTTTCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCA

>B34G_16S

CGCCTGTTTATCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCAGCA

>B34S_16S

CCTGTTTATCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGCCTG
CCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGGTAG
CGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTGGTA
GTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCTCAA
ATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAAAGAG
TTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTCTTT
GTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGGGAT
AACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGACCTC
GATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCA

>B35S_16S

CTCGCCTGTTTATCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGG
CCTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAG
GTAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGT
GGTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGT
CTCAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAATTGTAA
AAGAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAG
TTCTTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCA
GGGATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCG
ACCTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTTGGTGCA

>B35G_16S

TCGCCTGTTTATCAAAAACATCGCCTCTTGATAATAAATACGAGAGGTTGGGC
CTGCCCCGGTGAATAACTATTTAAACGGCCGCAGTGGATAACTGGTGCTAAGG
TAGCGTAATAAATTGTCTCTTAATTGGAGAAGGGTATGAATGGTTTGACGTG
GTAGTTTCTGTCTCAATGGTAATATTATGAAGTTTTCTTTTGAGTTAAAAGTCT
CAAATTTAGATAAAAAGACGAGAAGACCCTGTCGAGCTTAATAAAAATTGTAAA
GAGTTTTTATATAATAAATTTAACTGGGGCAGTTGAGAACCAATAAATAGTTC
TTTGTTATTTAAAGATCCGGTTTTACCGAACATAAGAAAAAGCTACCGCAGG
GATAACAGCGTTATCCTCTCTGAGAGAACTAATTGAAGAGGGGGTTTGCGAC
CTCGATGTTGGATTAAAGTTTCTTTTGGTGACAGCA

Musculus discors

>B407S_16S

GGTTTTCGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAGGTAGCGCGA
TAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGTGGGGTTAGCT
GTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTCAACGTGAAGAAGCGTTGATTTTG
TAGAAGGACGACAAGACCCTATGAAGCTTTACTTAAATTGTAGCAAGTTTTCT
TTGGATAAAAAGTTTTGATGGGGTATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTATA
GAATTTCTTACGGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTACCTACTCTAG
GGATAACAGCACAATTTCTCTCTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGA
CCTCGATGTTGGCTTTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTC
TGTTGACCTTTAATTTCCAACG

>B411G_16S

TTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAGGTAGCGCGATAA
TTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGTGGGGTTAGCTGTG
TCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTCAACGTGAAGAAGCGTTGATTTTGTAG
AAGGACGACAAGACCCTATGAAGCTTTACTTAAATTGTAGCAAGTTTTCTTTG
GATAAAAAGTTTTGATGGGGTATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTATAGA
ATTTCTTACCGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTAGCTACTCTAGGG
ATAACAGCACAATTTCTCTTTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGACCT
CGATGTTGGCTTTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTCTGT
TCGACCTTTAATTTCCAACGTGATCTGAG

>B411S_16S

GTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAGGTAGCGCGAT
AATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGTGGGGTTAGCT
GTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTCAACGTGAAGAAGCGTTGATTTTG
TAGAAGGACGACAAGACCCTATGAAGCTTTACTTAAATTGTAGCANGTTTTCT
TTGGATAAAAAGTTTTGATGGGGTATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTATA
GAATTTCTTACCGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTACCTACTCTAG
GGATAACAGCACAATTTCTCTCTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGA

CCTCGATGTTGGCTNTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTC
TGTTTCGACCTTTAATTTCCAACG

>B410G_16S

GGTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAGGTAGCGCGA
TAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGTGGGGTTAGCT
GTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTCAACGTGAAGAAGCGTTGATTTTG
TAGAAGGACGACAACACCCTATGAAGCTTTACTTAAATTGTAGCAGGTTTTCT
TTGGATAAAAGTTTTGATGGGGTATCAGTTTTAGTAAGACTAAGGTATGTATA
GAATTTCTTACCGGATTATTCTGACCTATTCCACACT

>B410S_16S

GGTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAGGTAGCGCGA
TAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGTGGGGTTAGCT
GTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTCAACGTGAAGAAGCGTTGATTTTG
TAGAAGGACGACAAGACCCTATGAAGCTTTACTTAAATTGTAGCAGGTTTTCT
TTGGATAAAAGTTTTGATGGGGTATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTATA
GAATTTCTTACCGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTACCTACTCTAG
GGATAACAGCACAATTTCTCTTTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGA
CCTCGATGTTGGCTTTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTC
TGTTTCGACCTTTAATTTCCAACGTGATC

>409G_16S

TATAGGGGCGAATTGGGCCCCGACGTCGCATGCTCCCGGCCGCCATGGCCGCG
GGATTCGCCTGTTTATCAAAAACATTTCTTCTAGAAATCTATTAGAAGTAGGC
CCTGCCCGGTGTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCGTGATCGTCCTAAG
GTAGCGCGATAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATGAATGGGTAAACGT
GGGGTTAGCTGTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATGATCAA

>410G_16S

TATTGACAGGGAAGTTTGTGACCTCGATGTTGGCTTTGGATTGCCTAAAGGTG
TAGAGGCTTTTATGGTGGGTCTGTTTCGACCTTTAATTTCCAACGTGATCTGAG
TTCAGACCGGAATCCCGCGGCCATGGCGGCCGGGAGCATGCGACGTCGGGCC
CAATTCGCCCTATAGTGAGTCGATNNCTTA

>413G_16S

TACGGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTAGNTACTCTAGGGATAACA
GCACAATTTCTCTTTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGACCTCGATGT
TGGCTTTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTCTGTTTCGACC
TTTAATTTCCAACGTGATCTGAGTTCAGACCGGAATCCCGCGGCCATGGCGGC
CGGGAGCATGCGACGTCGGGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGATAC

>414G_16S

TTTGGATAAAAGTTTTGAAGGGGTATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTAT
AGAATTTCTTACGGGATTATTCTGTTATATTACAGAATTGATTAGCTACTCTA
GGGATAACAGCACAATTTCTCTTTATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTG

ACCTCGATGTTGGCTTTGGATTACCTAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGT
CTGTTTCGACCTTTAATTTCCAACGTGATCTGAGTTCAGACCGGAATCCCGCGG
CCATGGCGGCCGGGAGCATGCGACGTCGGGCCCAATTCGCCCTATA

>B419G_16S

TTAGTAAGTCTAAGGTATGTATAGAATTTCTTACGGGATTATTCTGTTATATT
ACAGAATTGATTAGCTACTCTAGGGATAACAGCACAATTTCTCTTTATAGAAG
GTATTGACAGGGAAGTTTGTGACCTCGATGTTGGCTCTGGATTACCTAAAGGT
GTAGAGGCTTTTATGGTGGGTCTGTTTCGACCTTTAATTTCCAACGTGATCTGA
GTTTCAGACCGGAATCCCGCGGCCATGGCGGCCGGGAGCATGCGACGTCGGGC
CCAATTCGCCCTATA

>B418G_16S

ATCAGTTTTAGTAAGTCTAAGGTATGTATAGAATTTCTTACGGGATTATTCTG
TTATATTACAGAATTGATTAGCTACTCTAGGGATAACAGCACAATTTCTCTTT
ATAGAAGGTATTGACAGGGAAGTTTGTGACCTCGATGTTGGCTTTGGATTACC
TAAAGGTGTAGAGGCTTTTATGGTGGGTCTGTTTCGACCTTTAATTTCCAACGT
GATCTGAGTTCAGACCGGAATCCCGCGGCCATGGCGGCCGGGAGCATGCGAC
GTCGGGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGATACAAT

>B418S_16S

TTGGAAATTAAAGGTCGAACAGACCCACCATAAAAAGCCTCTACACCTTTAGG
TAATCCAAAGCCAACATCGAGGTCACAACTTCCCTGTCAATACCTTCTATAA
AGAGAAATTGTGCTGCTATCCCTAGAGTAGCTAATCAATTCTGTAATATAACA
GAATAATCCCGTAAGAAATTCTATACATACCTTAGACTTACTAAAACCTGATAC
CCCATCAAAACTTTTAT

>B419S_16S

ATTAGAAGTAGGCCCTGCCCGGTGTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCG
TGATCGTCCTAAGGTAGCGCGATAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATG
AATGGGTAAACGTGGGGTTAGCTGTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTC
AAC

>B412S_16S

TTGGAAATTAAAGGTCGAACAGACCCACCATAAAAAGCCTCTACACCTTTAGG
TAATCCAAAGCCAACATCGAGGTCACAACTTCCCTGTCAATACCTTCTATAA
AGAGAAATTGTGCTGTTATCCCTAGAGTAGCTAATCAATTCTGTAATATAACA
GAATAATCCGGTAAGAAATTCTATACATACCTTAGACTTACTAAAACCTGATA
CCCCATCAAAACTTTTATCCAAAGAAAACNTGCTACAATTTAAGTAAAGCTTC
ATAGGGTCTTGTGTCCTTCTACAAAATCAACGCTTCTTCACGTTGAAATCAA
TTTAAACAAACCTATACGACACAGCTAACCCACGTTAACCATTTCATACCAT
CCCTCTATTAAAGGGCAAATTATCGCGCTACCTTAGGACGATCACGCTAACG
CCGCCGTTTATTCCGCAAAACC

>B411G_16S

ATTAGAAGTAGGCCCTGCCCGGTGTTTTGCGGAATAAACGGCGGCGTTAGCG
TGATCGTCCTAAGGTAGCGCGATAATTTGCCCTTTAATAGAGGGATGGTATG
AATGGGTAAACGTGGGGTTAGCTGTGTCGTATAGGTTTGTTTAAATTGATTTC
AACGTGAA

Nuculana pernula

>B420S_COXI

CCTTAAGGTTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGGCAAATTTTA
AGGGAACAAATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTT
TTTTTATGGTAATGCCGATTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGT
TAATGCAGGGGTCTCCAGACATGTTATATCCGCGGTAAATAATTTAAGGTTT
TGATTAATTCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGG
GGGTGCGGGCACAGGGTGGACTATCTATCCGCCCTTTTCGGGGAATGCAGGA
CATGCTGGGGGTTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTTCTGGGCTG
TCATCTTTGTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATAAGGCGACC
AGGGGATGCTGGTATAGAAAAAATTGCGTTGTTCCGTGAGCCTTGATTGTTA
CAAGGTTTTTGTTATTAATCTCTTTACCGGTATTAGCTGGTGGTGTAACTATGT
TGATTGCTGATCGTAATTTTAACACCAGATTTTTTTGTGCCGGGTGGGGGCGGC
GATCCTATTTTATTTACGATTTATTTTGATTTTTTTGGTCACCCTG

>B421S_COXI

TTGGAACATCATGGTCTTTTGAGGTAAACACCGTGAATTGATATCGGGTTAC
CTTATAAGTTCTAAAGCAATCTTTTCAAAAAGGGGTATTCAATGTTTCTGTGT
ACACCGCACAAAATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTTAA
GGGAACAAATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTT
TTTTATGGTAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGT
AATGCAGGGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTAAATAATTTAAGGTTTT
GATTAATTCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGGG
GGTGCGGGCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCTTTCTGGGAATGCAGGAC
ATGCTGGGGGTTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTTCTGGGCTGT
CATCTTTGTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATAAGGCGACCA
GGGGATGCTGGTATAGAAAAAATTGCGTTGTTTCCGTGAGCTTTGATTGTTAC
AAGGTTTTTTGTTATTAATCTCTTTACCGGTATTAGCTGGTGGTGTAACTATGT
GATTGCTGATCGTAATTTTAACACCAGATTTTTTTGTGCCGGGTGGGGGTGGCG
ATCCTATTTTATTTANCATTTATTTTGATTTTTTTGGTCACCC

>B423G_COXI

TTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTTAAGGGAACA
AATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTTTTTTATGG
TAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGTAAATGCAG
GGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTAAATAATTT

>B423S_COXI

TTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTTAAGGGAACA
AATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTTTTTTATGG
TAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGTTAATGCAG
GGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTAAATAAATTTAAGGTTTTGATTAAT
TCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGGGGGTGCGG
GCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCCCTTTCTGGGAATGCAGGACATGCTGG
GGGTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTTCTGGGCTGTCATCTTT
GTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATAAGGCGACCAGGGGAT
GCCGGTATAGAAAAAATTGCGTTGTTTCCGTGAGCTTTGATTGTTACAAGGTT
TTTGTTATTAATCTCTTTACCGGTATTAGCTGGTGGTGTAAGTATGTTGATTGC
TGATCGTAATTTTAACACCAGATTTTTTGTGCCGGGTGGGGGTGGCGATCCTA
TTTTATTTANCATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCC

>B426G_COXI

TTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTTAAGGGAACA
AATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTTTTTTATGG
TAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGTTAATGCAG
GGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTAAATAAATTTAAGGTTTTGATTAAT
TCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGGGGGTGCGG
GCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCCCTTTCCGGGAATGCAGGACATGCCGG
GGGTCTGTCGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTCCTGGGCTGCCATCTTT
GC

>B426S_COXI

TTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGGCAAATTTTAAGGGAACA
AATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTTTTTTATGG
TAATGCCGATTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGTTAGTTCCGTTAATGCAG
GGGTCTCCAGACATGTTATATCCGCGGTAAATAAATTTAAGGTTTTGATTAAT
TCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGGGGGTGCGG
GCACAGGGTGGACTATCTATCCGCCCCCTTTCGGGGAATGCGGGACATGCTGG
GGGTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTTCTGGGCTGTCATCTTT
GTTA

>B427S_COXI

TCCTTAAGGTTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTT
AAGGGAACAAATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATT
TTTTTTATGGTAATGCCGCTTATGATTGGCGGTTTTGGTAATTGATTAGTTCCA
TTAATGCAGGGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTAAATAGTTTAAGGTT
TTGATTAATTCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGG
GGGGTGCGGGCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCCCTTTCTGGGAATGCAGG
ACATGCTGGGGGTTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTTCTGGGCT
GNCATCTTTGTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATAAGGCGAC
CAGGGGATGCTGGTATAGAAAAAATTGCCTTGTTTCC

>B427G_COXI

TTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGACAAATTTTAAGGGAACA
AATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAATAATGATTTTTTTTATGG
TAATGCCGCTTATGATTGGCGGTTTTGGTAATTGATTAGTTCCATTAATGCAG
GGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTTAAATAGTTTAAGGTTTTGATTAAT
TCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATGGTTGAGGGGGGTGCGG
GCACAGGATGGACTATCTATCC

>B428G_COXI

TTGGTACGTCCTTAAGGTTTGTTATTCGTATAAATTTACGTGTTCCAGGTAGA
CAAATTTTAAGGGAACAAATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAA
TAATGATTTTTTTTATGGTAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGT
TAGTTCCGTTAATGCAGGGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTTAAATAAT
TTAAGGTTTTGATTAATTCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATG
GTTGAGGGGGGTGCGGGCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCCTTTCTGGGA
ATGCAGGACATGCTGGGGGTTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTT
CTGGGCTGTCATCTTTGTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATA
AGGCGACCAGGGGATGCTGGTATAGAAAAAATTGCGTTGTTTCCGTGAGCTT
TGATTGTTACAAGGTTTTTGTATTAAATCTCTTTACCGGTATTAGCTGGTGGTG
TAACTATGTTGATTGCTGATCGTAATTTTAACACCAGATTTTTTGTGCCGGGT
GGGGGTGGCGATCCTATTTTAT

>B428S_COXI

TTGGTACGTCCTTAAGGTTTGTTATTCGTATAAATTTACGGGTTCCAGGTAGA
CAAATTTTAAGGGAACAAATATATAATGTGGTAGTCACAGCGCACGGACTAA
TAATGATTTTTTTTATGGTAATGCCGCTTATGATTGGAGGTTTTGGTAATTGGT
TAGTTCCGTTAATGCAGGGGTCTCCAGACATGCTATATCCGCGGTTAAATAAT
TTAAGGTTTTGATTAATTCCCTATGCTTTAATATTGTTGGTAATGGCTATGATG
GTTGAGGGGGGTGCGGGCACAGGATGGACTATCTATCCGCCCCTTTCTGGGA
ATGCAGGACATGCTGGGGGTTCTGTTGATTATGCTTGTTTTGCATTACATCTTT
CTGGGCTGTCATCTTTGTTAGCATCAATAAATTTTTTAGGTACAATTGTTATA
AGGCGACCAGGGGATGCTGGTATAGAAAAAATTGCGTTGTTTCCGTGAGCTT
TGATTGTTACAAGGTTTTTGTATTAAATCTCTTTACCGGTATTAGCTGGTGGTG
TAACTATGTTGATTGCTGATCGTAATTTTAACACCAGATTTTTTGTGCCGGGT
GGGGGTGGCGATCCTATTTTATTTTACGCATTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCT
GAAAGTT

Arctica islandica

>B336G_16S

ATAGAAAAATTTGTTTAATTAAAGTATTGTTAAAAATATATGAAGTATTATAA
CCCGAAGGGTAGCTTTACTAGGAAATAAACGTAATTAAATTGTGTTCTTTTTG
TATAATGATTTATAAATTGTATATATAAATTTATTTTCCTGAAAACCTCTAGAG
CCACTTTTATCTTGGGCTAATGTTTCATAATTAGAGAAAAGATAAAAAGTAGA
GGTGAAATGTTTTTCGAAAGGGTTGATAGCTGGTTTAAAGAGAAATACATTTT
CGTGTAGTTTGGTGATAAAATATTTTAAATTATATAAAAATAGTGTACACTAA
GTAAAGTTCTTAGGGGCTAAGCTCTAGGAAAGAATAAGAAAATATATAGTAC

TTGTAGAGTTAATATTGCTTTTCTATAGGAAGTATTTTTTTGAAGTTAATAAAA
ATTAGGTTTAAATATAGTATCTTTACCAACAGTTTAATTATAACGATGAGATAA
GTATAGAATCAGTATTTATTAAACTATATTAGACTAAATAATTTGTAAATTAA
AAATGATACACGTTTATAAAAATAAATTTAGAGTTTAGTGTGGCTAACTAATC
AATAATAAAAATAAATCTATCTTTAAAGAACTCGGCAAATATTCCCTTC

>B336S_16S

ATAGAAAAATTTGTTTAAATTAAGTATTGTTAAAAATATATGAAGTATTATAA
CCCGAAGGGTAGCTTTACTAGGAAATAAACGTAATTAAATTGTGTTCTTTTTG
TATAATGATTTATAAATTGTATATATAAATTTATTTTCCTGAAAACCTAGAG
CCACTTTTATCTTGGGCTAATGTTTCATAATTAGAGAAAAGATAAAAAGTAGA
GGTGAAATGTTTTTCGAAAGGGTTGATAGCTGGTTTAAAGAGAAATACATTTT
CGTGTAGTTTGGTGATAAAATATTTTAAATTATATAAAAATAGTGTACACTAA
GTAAAGTTCTTAGGGGCTAAGCTCTAGGAAAGAATAAGAAAATATATAGTAC
TTGTAGAGTTAATATTGCTTTTCTATAGGAAGTATTTTTTTGAAGTTAATAAAA
ATTAGGTTTAAATATAGTATCTTTACCAACAGTTTAATTATAACGATGAGATAA
GTATAGAATCAGTATTTATTAAACTATATTAGACTAAATAATTTGTAAATTAA
AAATGATACACGTTTATAAAAATAAATTTAGAGTTTAGTGTGGCTAACTAATC
AATAATAAAAATAAATCTATCTTTAAAGAACTCGGCAAATATTCCCTTC

Similipecten greenlandicus

>B467S_COXI

AATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACACCGCTAAAAGA
AAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAAACCTCTGCCTTGC
TCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTAATAGC

>B467G_COXI

TGCCAAAACAGGCAGAGACACCGCTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGC
TCAAACAAAAGGGGGACAAAACCTCTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTT
AAGAAAGTAACTATAAAATTAATAGCAGCCGCACTAGACCTCCCCCAGCCA
GATGAAGAGACAAAATTAAGAGGTCTACACCTATGGACCCCTCATAAACAGA
GAGGGGNGGGTACNAAGTCCACCCGGTACCCC

>B468G_COXI

AATGCCGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGA
CACCGCTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACA
AACTCTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAAT
TAATAGCAGCCGCACTAGACCTCACCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATTAA
AAGGTCTACACCTATGGACCCCTCATAAACAGAGAGGGGNGGGTACAAAGTC
CACCCGGTACCCC

>B468S_COXI

CTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACACCGCTAA
AAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAAACCTCTGC

CTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTAATAGCA
GCCGCACTAGACCTCACCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATTAAGGTCTA
CACCTATGGACCCCTCATAAACAGAGAGGGGNGGGTACAAAGTCCACCCGGT
ACCCC

>B470G_COXI

AATGCCGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGA
CACCGCTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACA
AACTCTGCCTTGCTCATTCTACCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAAT
TAATAGCAGCCGCACTAGACCTCCCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATTA
AAGGGCTAC

>B471G_COXI

TGCCGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACA
CCGCTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAA
ACTCTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTA
ATAGCAGCCGCACTAGACCTCCCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATTA
AGGTCTACACCTATGGACCCCTCATAAACAGAGAGGGGNGGGTACAAAGTCC
TCCCGGTACCCC

>B471S_COXI

AATGCCGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGA
CACCGCTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACA
AACTCTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAAT
TAATAGCAGCCGCCCTAGACCTCCCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATTA
AAGGTCTACACCTTTGGACCCCTCATAAACAGAGAGGGGNGGGTACAAAGTC
CTCCCGGTACCCC

>B472G_COXI

TGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACACCG
CTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAAAT
CTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTAATA
GCAGCCGCACTTG

>B472S_COXI

TGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACACCG
CTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAAAT
CTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTAATA
GCCGCCGCACTAGACCTCCCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATT

>B473_COXI

TGATCTAGAATTAACATAGTTAAACCTCCTGCCAAAACAGGCAGAGACACCG
CTAAAAGAAAGCTCGTAACAATAGTAGCTCAAACAAAAGGGGGACAAAAT
CTGCCTTGCTCATTCTGCCCCGAGAATTTAAGAAAGTAACTATAAAATTAATA
GCCGCCGCACTAGACCTCCCCCAGCCAGATGAAGAGACAAAATT

>B469G_COXI

TTAATAATATGGTAATTGCTCCTGCTAAAACAGGTATTGTTAATAATAGAAGA
AATGCTGTTGCTAAAATAGATCAAACAAAAAGGGGAATTTGAATAATTCTTA
ATCCATTTTTTCGATAAGTTAAGAAAGTGGTGAAAAAATTAATTCTTCNATTA
ATTCTTGAAGCCCCCGCTAAATGAAGAGATAAAATTGCTAAATCTATGGAAT
ATCTAGAAGAGAATGGNTAAGAAGAAAGTGGTGGATAGATAGTTCAACCTG
CTCCCNCTCCTACTTCTGTATAAAAGAGAATAGC

>B469S_COXI

TCGATCAGGTTAATAATATGGTAATTGCTCCTGCTAAAACAGGTATTGTTAAT
AATAGAAGAAATGCTGTTGCTAAAATAGATCAAACAAAAAGGGGAATTTGA
ATAATTCTTAATCCATTTTTTCGATAAGTTAAGAAAGTGGTGAAAAAATTAAT
TCTTCNATTAATTCTTGAAGCCCCCGCTAAATGAAGAGATAAAATTGCTAAAT
CTATGGAATATCTAGAAGAGAATGGATAAGAAGAAAGTGGTGGATAGATAG
TTCAACCTGCTCCCNCTCCTACTTCTGTATAAAAGAGAATAGC

Placopecten magellanicus

>B250G_16S

GTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTAAGGTAGCTAAGT
TATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAGCCTCCAACCTGTC
TCTAGGTTGTTTTGGTGAACCTTGAGTTGAATGTGTAAATGCCTTCGTGGGTAA
GAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGTATGGAGTGTTAT
TCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTGGTTTCTAAGTGAG
GGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTGTTGGGGCAGCAAAAGGGCAAATTTAGACCT
TAATTGTATTTAAAACGGGTGCGTTACGACCCATAATTA AAAAGGTGTGATT
AGCAGAAGGAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTTATTCGTCCTGAGAGTTCTT
ATTGGTGGACGGGTTTTCGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTGGGGCTTG
CAGGCGGTCCCAAGGGTTGGTTCGTTTCGCCCATTA AAAATCCGACGTGATCTG
AGTTCAGACCGG

>B253G_16S

TCGTGCCTTCCNGTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTA
AGGTAGCTAAGTTATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAG
CCTCCAACCTGTCTCTAGGTTGTTTTGGTGAACCTTGAGTTGAATGTGTAAATGC
CTTCGTGGGTAAAGAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGT
ATGGAGTGTTATTCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTG
GTTTCTAAGTGAGGGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTGTTGGGGCAGCAAAAGGG
CAAATTTAGACCTTAATTGTATTTAAAACGGGTGCGTTACGACCCATAATTAA
AAAGGTGTGATTAGCAGAAGGAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTTATTCGTC
CTGAGAGTTCTTATTGGTGGACGGGTTTTCGACCTCGATGTTGGCTCTGGATA
TCCTGGGGCTTGCAGGCGGTCCCAAGGGTTGGTTCGTTTCGCCCATTA AAAATCC
GACGTGATCTGAGTTCAGACCGG

>B254G_16S

GTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTAAGGTAGCTAAGT
TATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAGCCTCCAAGTGTCT
TCTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATGCCTTCGTGGGTAA
GAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGTATGGAGTGTTAT
TCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTGGTTTCTAAGTGAG
GGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTCTGGGGCAGCAAAAGGGCAAATTTAGACCT
TAATTGTATTTAAAACGGGTGCGTTACGACCCATAATTAAAAAGGTGTGATT
AGCAGAAGGAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTTATTCGTCCTGAGAGTTCTT
ATTGGTGGACGGGTTTGCNACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTGGGGCTT

>B250S_16S

TCGTGCCTTCNNGTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTA
AGGTAGCTAAGTTATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAG
CCTCCAAGTGTCTCTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATGC
CTTCGTGGGTAAAGAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGT
ATGGAGTGTTATTCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTG
GTTTCTAAGTGAGGGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTCTGGGGCAGCAAAAGGG
CAAATTTAGACCTTAATTGTATTTAAAACGGGTGCGTTACGACCCATAATTAA
AAGGTGTGATTAGCAGAAGGAGTT

>B253S_16S

GTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTAAGGTAGCTAAGT
TATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAGCCTCCAAGTGTCT
TCTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATGCCTTCGTGGGTAA
GAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGTATGGAGTGTTAT
TCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTGGTTTCTAAGTGAG
GGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTCTGGGGCAGCAAAAGGGCAAATTTA

>B254S_16S

TGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTAAGGTAGCTAAGTT
ATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAGCCTCCAAGTGTCT
CTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATGCCTTCGTGGGTAA
AAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGTATGGAGTGTTATT
CCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTGGTTTCTAAGTGAG
GGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGTCTGGGGCANCAAAAGGGCAAATTTA

>249G_16S

TCGTGCCTTCCCNGTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCT
AAGGTAGCTAAGTTATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGA
GCCTCCAAGTGTCTCTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATG
CCTTCGTGGGTAAAGAAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCG
TATGGAGTGTTATTCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTTGGTTG
GTTTCTAAGTNANGGGGTGTAGNGAATGGTTTT

>B251G_16S

TGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAATCGTGCTAAGGTAGCTAAGTT
ATGGCCTATTAATTGTAGGTCTTGTGAATGGTTTGACGAGCCTCCAAGTGTCT
CTAGGTTGTTTTGGTGAAGTTGAGTTGAATGTGTAAATGCCTTCGTGGGTAAG
AAAGACGAGAAGACCCCGTGAAGTTAAAAATTTAGCGTATGGAGTGTATT
CCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTGGTTGGTTTCTAAGTGAG
GGGGTGTAGTGAATGGTTTTTGCTGGGG

Yoldia Hyperborea

>B389G_COXI♂

TAATTTTTTCTATGGTTGTTGAAAAGGGGGCGGGCCCAGGGTGAAGTATTTAT
CCCCCTTTATCAAGATATTTGTTTCATACAGGTGCTAGTGTGGATTTAGCGTG
TTTTTCATTACATTTGTCAGGTTTGTTCCTTTGTTGGCGGCTGTTAATTTTATG
GCTACAGTTATTATAATACGGCCTAATGACCAGAATTGGGAAAAGGGGCCTC
TTTTTGCTTGTTCTATGTGTGTTACTAGGTTTTTGTATTAAATTCGTTGCCTGT
TTTGGCGGGAGGTGTGAAAATGTTGATTGCAGATCGTCATTTTAATACAACAT
TTTTTA

>B385G_COXI♂

AGGAATGTCTTTGAGTTTGGCTATTCAAATAAATTTACGGGTGCCGGGAAGG
CAGTTATTTGACCCTCATTTATACAATGTTATTGTGACTGCTCATGCTTTAATT
ATGATTTTTTTTATAGTTATACCGGTAATGATAGGGGGGTTTGGAAT

>B386G_COXI♂

AGGAATGTCTTTGAGTTTGGCTATTCaAATAAATTTACGGGTGCCGGGAAGGC
AGTTATTTGACCCTCATTTATACAATGTTATTGTGACTGCTCATGCTTTAATTA
TGATTTTTTTTATAGTTATACCGGTAATGATAGGGGGGTTTGGAATTGACT

>B308S_COXI♀

GGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCGATTAAATTTACGGG
TTCCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTATTGTGACCGCG
CATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATAATAGGAGGATT
TGGAATTTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACATGTGTTATCCTC
GGTTAAATAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTTGTGTTTGGTTT
TTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAGTATTTACCCTCCT
TTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAGCGTGTTTTTCA
TTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTTAATTTTATGGCTACT
ATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTACCTCTATTTCC
TTGTTCAATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTATTGATTTCTTTACCTGTTTTAGC
CGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTTAATACAACATTTTTTA
TTCAAAGGGGGAGGGGATCCAATTTTGTTC

>B390S_COXI♀

ATGTGGTCTTGGGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCGATT
AAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTA
TTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATA
ATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACAT
GTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTT
GTGTTTGGTTTTTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAC TA
TTTACCCTCCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAG
CGTGTTTTTCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTT
TATGGCTACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTA
CCTCTATTTCTTGTTCAATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTTATTGATTTCTTTAC
CTGTTTTAGCCGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTTAATACA
ACATTTTTTATTCCAAA

>B384S_COXI♀

ATGTGGTCTTGGGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCGATT
AAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTA
TTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATA
ATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACAT
GTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTT
GTGTTTGGTTTTTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAC TA
TTTACCCTCCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAG
CGTGTTTTTCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTT
TATGGCTACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTA
CCTCTATTTCTTGTTCAATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTTATTGATTTCTTTAC
CTGTTTTAGCCGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTTAATACA
ACATTTTTTATTCCAAA

>B389S_COXI♀

ATGTGGTCTTGGGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCGATT
AAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTA
TTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATA
ATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACAT
GTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTT
GTGTTTGGTTTTTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAC TA
TTTACCCTCCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAG
CGTGTTTTTCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTT
TATGGCTACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTA
CCTCTATTTCTTGTTCAATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTTATTGATTTCTTTAC
CTGTTTTAGCCGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTTAATACA
ACATTTTTTATTCCAAA

>B388S_COXI♀

TTGGGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCGATTAAATTTAC
GGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTATTGTGACC
GCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATAATAGGAGG
ATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGATATGTGTTATC

CTCGGTAAATAAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTTGTGTTTGG
TTTTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAACATTTACCT
CCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAGCGTGTTT
TCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTTATGGCT
ACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCA

>B388G_COXI♀

CTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGGGCTAGGGTAGATTTAGCGTGTTT
TCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTTATGGCT
ACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTACCTCTATT
TCCTTGTTCAATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTATTGATTTCTTTACCTGTTTTA
AGCCGGGGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTAATACAACATTTT
TTATTCCTAAA

>B383G_COXI♀

ATGTCGCTTGAGTTTGGCTATTCGATTAAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGT
TATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTATTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATA
ATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATAATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGT
GCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACATGTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAA
GGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTTGTGTTTCGGTTTTTTCTATGATTGTTGA
GAAGGGTGCAGGTACAGGGTGAACATTTACCTCCTTTATCAAGGTATTTGT
TTCATAC

>B383S_COXI♀

GTGGTCTTGGGCAGGTTTGATGGGGTATGTCGCTTGAGTTTGGCTATTCGATT
AAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATGTTA
TTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAATA
ATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGACAT
GTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAAGGTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTGTT
GTGTTTGGTTTTTTCTATGATTGTTGAGAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAC
TTTACCCTCCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTTAG
CGTGTTTTTCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAAATTT
TATGGCTACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGGTA
CCTCTATTTCTTGTTCATGGCTGTTACTAGGTTTTTGTATTGATTTCTTTAC
CTGTTTTAGCCGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTAATACA
ACATTTTTTATTCCTAAAGGGGGAGGGGATCCAATTTTGTTCANCATTTGTT
TTGATTTTTTGGACACCC

>B384S_COXI♀

TTATGTGGTCTTTGGGCAGGTTTGATGGGTATGTCGTTGAGTTTGGCTATTCG
ATTAAATTTACGGGTTCTGGGAGACAGTTATTTGATCCTCATTTGTATAATG
TTATTGTGACCGCGCATGGGTAAATTATAATTTTTTTTATGGTTATGCCAGTAA
TAATAGGAGGATTTGGAAATTGATTGGTGCCTATAATGTTAGGTGTTCTGAC
ATGTGTTATCCTCGGTAAATAATTTAAGGTTTTTGGTTAGTACCTTTTGCTTTG
TTGTGTTTGGTTTTTTCTATGATTGTTGANAAGGGTGCTGGTACAGGGTGAAC
TATTTACCCTCCTTTATCAAGGTATTTGTTTCATACGGGTGCTAGTGTAGATTT

AGCGTGTTTTTCATTGCATTTGTCAGGTCTATCTTCTTTATTGGCATCTGTAA
TTTTATGGCTACTATTATTATAATGCGACCTAATGATCAGAATTGGGAAAAGG
TACCTCTATTTTCCTTGTTCAATGGCTGTTACTAGATTTTTGTTATTGATTTCTTT
ACCTGTTTTAGCCGGTGGTGTGACAATGTTGATTGCGGACCGTCATTTTAATA
CAACATTTTTTATTCTAAAGGGGGAGGGGATCCAATTTTGTTTCAGCATTTG
TTTTGATTTTTTGGTCACCC

Scrobicularia plana

>B129S_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCTTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAAAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAACACCTTCCTCAACTT

>B122G_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCTTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAGAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAACACCTTCCTCAACTTCATTAGATATAAGTAGTAAAA

>B122S_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCTTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAGAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAACACCTTCCTCAACTTCATTAGATATAAGTAGTAAAA

>B123G_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCTTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAGAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAA

>B123S_COXI♀

CAGCTAATACAGGCATAGCTACTACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGA
AACTACAAATAAAGTAGTCCGTTGAGGTGCAATACCTTCAGGCCGTATATTT
GCACCTGTAGTAACAAAATTAATCCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAA
TATGTAATCCAAGAATTATAAATTCAAGAGCGGGTGCGGGGTGACCTAACCA
AGCAAAAAGAGGTGGATAAAGAGTTCAACCCGTACCAACACCTTCCTCAACT
TCATTAGATATAAGTAGTAAAC

>B124S_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCCTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAGAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAACACCTTCCT

>B129S_COXI♀

TACTAATAAAAAAGAAGTAATAACTACAGAACTACAAATAAAGTAGTCCGT
TGAGGTGCAATACCCTCAGGCCGTATATTTGCACCTGTAGTAACAAAATTAAT
CCTTGCAAAAATTGAAGATATAACCAGCAATATGTAATCCAAGAATTATAAAT
TCAAGAGCAGGTGCAGGGTGACCTAACCAAGCAAAAAGAGGTGGATAAAGA
GTTCAACCCGTACCAACACCTTCCTCAACTTCATTAGATATAAGTAGTAAAC
AGTTGCTGCTGGTAATAATCAAAAAGCTAAAATTATTC

>B129G_COXI♂

GGTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTTTAATGATTTT
TTTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAATAGTTCCAAT
TTTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTTTTAGTTTCTG
ACTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTTTTGTGTTTCCAATTGTGTAGAGGAAGG
TGTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGGTTAGGCCACC
CAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGCTGGGGCTTCA
TCGATTTTCGGG

>B130G_COXI♂

GGTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTTTAATGATTTT
TTTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAATAGTTCCAAT
TTTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTTTTAGTTTCTG
ACTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTTTTGTGTTTCCAATTGTGTAGAGGAAGG
TGTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGGTTAGGCCACC
CAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGCTGGGGCTTCA
TCGATTTTCGGG

>B131G_COXI♂

GGTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTTTAATGATTTT
TTTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAATAGTTCCAAT
TTTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTTTTAGTTTCTG
ACTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTTTTGTGTTTCCAATTGTGTAGAGGAAGG
TGTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGGTTAGGCCACC
CAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGCTGGGGCTTCA
TCGATTTTCGGG

>B132G_COXI♂

GTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTTTAATGATTTT
TTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAATAGTTCCAAT
TTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTTTTAGTTTCTGA

CTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTTTTGTTTTCCAATTGTGTAGAGGAAGGT
GTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGGTTAGGCCACC
CAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGCTGGGGCTTCA
TCGATTTTCG

>B133G_COXI♂

GGCGTTTTATGGTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTT
TAATGATTTTTTTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAA
TAGTTCCAATTTTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTT
TTAGTTTCTGACTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTTTTGTTTTCCAATTGTGT
AGAGGAAGGTGTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGG
TTAGGCCACCCAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGC
GGGGGCTTCATCGATTTTCGGG

>B134G_COXI♂

GTGAGGCCTTATACAACGTTATTGTGACGTCCACGGTATTTTAATGATTTTT
TTTATGGTTATACCCTTAATAATCGGGTTTTTCGGTAATTGAATAGTTCCAATT
TTTTTACATGCCCCCGACCTCTCTTTTGGGCGAGTTAATAGTTTTAGTTTCTGA
CTAATGCCGTTTTCTTAATTTTAGTCTTGTTTTCCAATTGTGTAGAGGAAGGT
GTCGGAGCGGGTTGGACATTATATCCCCCCTCTCGAGGTGGTTAGGCCACC
CAGCGCCAGCAATAGAGTTTATAATTATGGGTTTACACTTGGCTGGGGCTTCA
TCGATTTTCGGG

Polymesoda sp.

>B491G_16S

CGGCTATTTATTTACTAAGGTAGCGTGGAATTTGCCCTTTAATTGGGGGCTG
GTACGAATGGTTTGACGTTAGAAAGTCTTTATTTAAAGTATGGTTGTAAAGT
TTCCGTTTAAGTGAAAAGGCTTAAATTTTTGTAAAAGACGAGAAGACCCTGT
CGAGCTTGATTAAATGTGGTATTATTGTCTGTATATTATTTTAAAGTTTAGTTG
GGGCAACTGAAGATGAAAAGAACATTTTTTGTATTAGATGAGGATCCATTC
AGAATGATAGAAAGCAAAAGCTACCGCAGGGATAACAGAGTAATCATTTTTT
GAGAGCACGTATTAAAGAAAAGGTTTACCACCTCGATGTTGGATTAAGAA

>B491S_16S

CGGCTATTTATTTACTAAGGTAGCGTGGAATTTGCCCTTTAATTGGGGGCTG
GTACGAATGGTTTGACGTTAGAAAGTCTTTATTTAAAGTATGGTTGTAAAGT
TTCCGTTTAAGTGAAAAGGCTTAAATTTTTGTAAAAGACGAGAAGACCCTGT
CGAGCTTGATTAAATGTGGTATTATTGTCTGTATATTATTTTAAAGTTTAGTTG
GGGCAACTGAAGATGAAAAGAACATTTTTTGTATTAGATGAGGATCCATTC
AGAATGATAGAAAGCAAAAGCTACCGCAGGGATAACAGAGTAATCATTTTTT
GAGAGCACGTATTAAAGAAAAGGTTTACCACCTCGATGTTGGATTAAGAA

>B492G_16S

CGGCTATTTATTTACTAAGGTAGCGTGGTAATTTGCCCTTTAATTGGGGGCTG
GTACGAATGGTTTGACGTTAGAAAGTCTTTATTTAAAGTATGGTTGTAAAGT
TTCCGTTTAAAGTGAAAAGGCTTAAATTTTTGTAAAAGACGAGAAGACCCTGT
CGAGCTTGATTAAATGTGGTATTATTGTTTGTATATTATTTTAAAGTTTAGTTG
GGGCAACTGAAGATGAAAAGAACATTTTTTGTATTATTAGATGAGGATCCATTC
ANAATGATAGAAAGCAAAAGCTACCGCAGGGATAACAGACTAATCATTTTTT
GAGAGCACGTATTAAAGAAAAGGTTTACCACCTCGATATTGGACTAAGAACC
TCCCTATGCTT

>B492S_16S

CGGCTATTTATTTACTAAGGTAGCGTGGTAATTTGCCCTTTAATTGGGGGCTG
GTACGAATGGTTTGACGTTAGAAAGTCTTTATTTAAAGTATGGTTGTAAAGT
TTCCGTTTAAAGTGAAAAGGCTTAAATTTTTGTAAAAGACGAGAAGACCCTGT
CGAGCTTGATTAAATGTGGTATTATTGTTTGTATATTATTTTAAAGTTTAGTTG
GGGCAACTGAAGATGAAAAGAACATTTTTTGTATTATTAGATGAGGATCCATTC
ACAATGATAGAAAGCAAAAGCTACCGCAGGGATAACAGACTAATCATTTTTT
GAGAGCACGTATTAAAGAAAAGGTTTACCACCTCGATATTGGACTAAGAACC
TCCCTATGCTT

Mesodesma deauratum

>B509G_16S

CGGTCGCAATTTGCTAATTGTGCGAAGGTAGCGCAATAAATCGTCTTTTAATT
GGAGAAAGGTCTCAACGGCTTGACTTAGGGAAGGACTGTCATCAGAAAANCC
TCTTGCCGTTTTTCATNAA

>B509S_16S

CGGTCGCAATTTGCTAATTGTGCGAAGGTAGCGCAATAAATCGTCTTTTAATT
GGAGAAAGGTCTCAACGGCTTGACGAGGGAGGGACTGTCTCAGAAANAC

>B508G_16S

CGGTCGCAATTTGCTAATTGTGCGAAGGTAGCGCAATAAATCGTCTTTTAATT
GGAGAAAGGTCTCAACGGCTTGACGAGGGAGGGACTGTCTCAGAAATAC

>B508S_16S

CGGTCGCAATTTGCTAATTGTGCGAAGGTAGCGCAATAAATCGTCTTTTAATT
GGAGAAAGGTCTCAACTTGTCGAGGGAGGGACTGTCTCAGAAANACCTC

Bathyarca glacialis

>B450G_COXI

CCCCATCTGGAACAAAAAAGATGTATTTAAATTTTCGATCTGCAATTAATATT
GTAATAGCTCCGGCTAACACTGGAAGTGAAAGCAACAATAAAAACCCTGTTA

CTAGTATCGCTCAAGGGAATAAAGGAATTTTCAATCCCCTGCAATCATCTGG
GCGTATAAATGTAATAGTTGCTATAAAATTTGCTGCCC

>B450S_COXI

TTTCGATCTGCAATTAATATTATAATAGCTCCGGCTAACACTGGAAGTGAAAG
CAACAATAAAAACCCTGTTACTAGTATCGCTCAAGGGAATAAAGGAATTTTC
AATCCCCTGCAATCATCTGGGCGTATAAATGTAATAGTTGCTATAAAATTTGC
TGCGCAAATAAAGTAGGATA

Musculus niger

>B324S_COX1

AGTGGGCGGGAATACTATCGTTTAGGGTTTAGCCCTTTTGATTTCGGCTTCATT
TATCTCATCCAGGAAATTTATTAATTAATAAATGAATGGCACTACAATGTGGTT
GTTACTACTCATGCTCTTTTAATAATTTTTTTTGGCGTAATGCCGGGCTTG-
ATTGGGGGTTTTGGTAATTGGCTTATTCCTTTATGTATTGGAGGATGTGATTT
GATTTTTCCTCGTTTAAATAAATAAGGTACTGGTTATCTCCAAATGCTTTGTA
CCTTCTTGTAATTCTGTAATAACAGANAAAGGAGCTGGGACGGGGTGAAC
TTGTATCCTCCTCTCTCTTCTGTGGAATACCATGGAGGTCCCTGTGTTGATGTG
TTGATTACTTCTTTACATTTAATTGGGCTAAGTTCTTTGNTAGGAGCAATAAA
TAT

>B326S_COX1

TAGGGTTTAAGGGTTTAGCCCTTTTGATTTCGGCTTCATTTATCTCATCCAGGA
AATTTATTAATTAATAAATGAAGGGATACC

>B327S_COX1

GGGTTTAGCCCTTTTGATTTCGGCTTCATTTATCTCATCCAGGAAATTTATTAAT
TAAAAATGAATGGTACTACAATGTGGTTGTCACCACCCATG

Littorina littorea

>B332G_COX1

GATCTGGGCTTGTTGGTACTGCCTTAAGTCTACTTATTCGGGCTGAATTAGGT
CAACCTGGCGCTCTCCTGGGAGATGACCAGCTGTACAACGTTATCGTTACAG
CCCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTCTTGTTATGCCTATGATAATTGGTGGGT
TTGGAAATTGACTTGTCCCCTTAATATTAGGAGCACCCGATATAGCATTCCCT
CGCTTAAATAACATAAGCTTTTGATTACTCCCCCGCCTTGTTGTTGTTACTA
TCTTCTGCTGCGGTAGAAAGTGGTGCAGGGACGGGTTGAACTGTATATCCTCC
TTTATCCGGAAATTTAGCCCATGCCGGAGGCTCTGTGGACTTAGCCATTTTCT
CTCTTCATTTGGCCGGTGTCTCATCTATTTTAGGGGCCGTAAATTTTATTACAA
CTATTATTAATATGCGATGACGAGGGATGCAATTCGAGCGATTACCTCTTTTT
GTTTGATCTGTAAAAATTACAGCCATTCTTTTACTTTTATCCCTTCCAGTTT
GCAGGAGCCATTACAATATTGTAACTGATCGAAATTTTAACACTGCCTTCTT

CGACCCTGCTGGGGGTGGAGATCCTATTCTCTACCAGCATTTATTTTGATTTTT
TGGTCACCCTGAA

>B332S_COX1

GATCTGGGCTTGTGGTACTGCCTTAAGTCTACTTATTCGGGCTGAATTAGGT
CAACCTGGCGCTCTCCTGGGAGATGACCAGCTGTACAACGTTATCGTTACAG
CCCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTCTTGTTATGCCTATGATAATTGGTGGGT
TTGGAAATTGACTTGTCCCCTTAATATTAGGAGCACCCGATATAGCATTCCCT
CGCTTAAATAACATAAGCTTTTGATTACTCCCCCCCCGCCTTGTGTGTTACTA
TCTTCTGCTGCGGTAGAAAGTGGTGCAGGGACGGGTGAACTGTATATCCTCC
TTTATCCGGAAATTTAGCCCATGCCGGAGGCTCTGTGGACTTAGCCATTTTCT
CTCTTCATTTGGCCGGTGTCTCATCTATTTTAGGGGCCGTAAATTTTATTACAA
CTATTATTAATATGCGATGACGAGGGATGCAATTTCGAGCGATTACCTCTTTTT
GTTTGATCTGTAAAAATTACAGCCATTCTTTTACTTTTATCCCTTCCAGTTTAA
GCAGGAGCCATTACAATATTGTAACTGATCGAAATTTTAACACTGCCTTCTT
CGACCCTGCTGGGGGTGGAGATCCTATTCTCTACCAGCATTTATTTTGATTTTT
TGGTCACCCTG

>B50G_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTTAGTTGTTCC
TTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATGTATATATCACTTTCT
TTATATCATAAATG

>B50S_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTTAGTTGTTCC
TTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATGTATATATCACTTTCT
TTAT

>B53G_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAA

>B53S_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGA

>B54G_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTTAGTTGTT

>B54S_16S

GA CTCAGATCACGTAGAATTTTAATGGT CGAACAGACCAACCCTTGAAGGCT
TCTGCACCTGTCAGGATATTCTAGTCCAACATCGAGGGGTCACAAACCTTTTTT
TCGATGAGAACTCTCAAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTC
TTTTAATCGTAACTAGTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGA
AGCTTTAGTTGTTTCCTTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATG
TGTATATCACTTTCTTTATATCATAAATGAGTTTTAAGCTCGATAGGGTCTTCT
TGTCTTTTAATATTATCTAGGTTTCTTCACCTAGAAAATAAATTCCAGAGATT
CTGCAGAGACAGGGTTGCCCTTGTCAAACCTTTCATACTAGCCCTCAATTATA
GGGCAAATGATTATGCTACCTTTGCACGGTCAGAGTACCGCGGCCGTTGAAT
ACGAGATGTATCACTGGGCAGGTCCGACTCTTTATGTAAGTTTTCCAAAGAGC
CATGTTTTTGAAAAACAGGGCGA

>B56S_16S

TGCACCTGTCAGGATATTCTAGTCCAACATCGAGGGGTCACAAACCTTTTTTTC
GATGAGAACTCTCAAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTT
TTAATCGTAACTAGTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAG
CTTTAGTTGTTTCCTTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATGTG
TATATCACTTTCTTTATATCATAAATGAGTTTTAAGCTCGATAGGGTCTTCTTG
TCTTTTAATATTATCTAGGTTTCTTCACCTAGAGAATAAATTCCAGAGATTCT
GCAGAGACAGGGTTGCCCTTGTCAAACCTTTCATACTAGCCCTCAATTATAGG
GCAAATGATTATGCTACCTTTGCACGGTCAGAGTACCGCGGCCGTTGAATAC
GAGATGTATCACTGGGCAGGTCCGACTCTTTATGTAAGTTTTCCAAAGAGCCA
TGTTTTTGAAAAACAGGCG

>B56G_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTTAGTTGTTCC
TTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATGTGTATATCACTTTCT
TTAT

>B62S_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC
AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTTAGTTGTTCC
TTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTTATGAAAAGAAATGTGTATATCACTTTCT
TTATATCATAAATGAGTTTTAAGCTCGATAGGGTCTTCTTGTCTTTTAATATTA
TCTAGGTTTCTTCACCTAGAAAATAAATTCCAGAGATTCTGTCAGAGACAGG
GTTGCCCTTGTCAAACCTTTCATACTAGCCCTCAATTATAGGGCAAATGATTA
TGCTACCTTTGCACGGTCAGAGTACCGCGGCCGTTGAATACGAGATGTATCA
CTGGGCAGGTCCGACTCTTT

>B62G_16S

ATATTCTAGTCCAACATCGAGGGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATGAGAACTCTC

AAAAAAGATTATGCTGTTATCCCTACGGTAACTAATTCTTTTAATCGTAACTA
GTACGGATCTAGATTTAGATATTTTTATAAATAAAAGAAGCTTGAGTTGTTCC
TTAGTCGCCCCAACCAAAATTTTTATGAAAAGAAATGTGTATATCACTTTCT
TTATATCATAAATGAGTTTTAAGCTCGATAGGGTCTTCTTGTCTTTTAATATTA
TCTAGGTTTCTTCACCTAGAGGATAAATTCCAGAGATTTCTGCAGAGACGGG
GTTGCCCTTGTCAAACCTTTCATACTAGCCCTCAATTATAGGGCAAATGATTA
TGCTACCTTTGCACGGTCAGAGTACCGCGGCCGTTGAATACGAGATG

Tectura testudinalis

>B66S_COXI

TACTTTAAGATTACTAATTCGGATTCATTTAATGCACAGGGGGGAGAGGGTTCC
TGGATGACCGGCACCTTGTACAATGCAGTAGTAACAGCCCATGCGTTTTTAAT
AATTTTTTTTATGGTAATGCCTGTTTTAATCGGGGGGTTTGGTAATTGGTTAGT
TCCCATGTTAATTCCTGCTCCTGATTTAGGATTAGCTCGTATAAATAACTTAA
GGTTTTGGCTATTACCACATTCCTTAGTGTTTTACTTGTTTCTACTTTAACAG
ATACAGCAGTAGGGACTGGTTGGACTCTATACCCCCCCTGTCTTCCTTAGAG
GGACACCACTCACCATGTGTTGATGAGGCAATTTTTTCTTTACATATAAGAGG
CATTGCTTCAATTTATTGCAAGTGTAATTTTCATTACTACAATCAAACATGCC
CGCGGCCCCCATAAACCGTTGGTGGCACTTCCCTTGTTTGTTGCTGCAATTGG
TACCACTAGTATTTTACTTCTTCTTTCAGTGCCTGTGTTGGCCGGGGCCTTAAC
AATGTTGATTACTGATCGTAATATCAACACTGCCTTCTTTGATCCAGAGGGGG
GGGGCGACCCTGTGTTGTTTCAACATCTTTTCTGATTTTTTTGG

>B96S_COXI

TACTTTAAGATTACTAATTCGGATTCATTTAATGCACAGGGGGGAGAGGGTTCC
TGGATGACCGGCACCTTGTACAATGCAGTAGTAACAGCCCATGCGTTTTTAAT
AATTTTTTTTATGGTAATGCCTGTTTTAATTGGGGGGGTTTGGTAATTGGTTAGT
TCCCATGTTAATTCCTGCTCCTGATTTAGGATTAGCTCGTATAAATAACTTAA
GGTTTTGGCTATTACCACATTCCTTAGTGTTTTACTTGTTTCTACTTTAACAG
ATACAGCAGTAGGGACTGGTTGGACTCTATACCCCCCCTGTCTTCCTTAGAG
GGACACCACTCACCATGTGTTGATGAGGCAATTTTTTCTTTACATATAAGAGG
CATTGCTTCAATTTACTGCAAGTGTAATTTTCATTACTACAATCAAACATGCC
CGCG

>B97G_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACGGG

CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG
CGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAAC
ATTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGAAAAACAGGGGGA

>B97S_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCA

>B96S_16S

TTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTGG
TCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTTCCCTTTTAACA
GTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAACTATGTCTTGT
CAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTGA
GGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAGG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAAA
CAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGACA
GGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAATT
CAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGGC
CAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCGC
GGCAATTGAATCCCGTAGGCC

>B96G_16S

TTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTGG
TCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTTCCCTTTTAACA
GTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAACTATGTCTTGT
CAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTGA
GGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAGG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAAA
CAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGACA
GGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAATT
CAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGGC
CAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCGC
GGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAACA
TTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGA

>B93S_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAACTATGTCTTG

TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAAC TAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACGGG
CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG
CGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAAC
ATTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGAAA

>B93G_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACTCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAAC

>B66S_16S

GAGGCCGTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTGGTCTCG
CCGGGAAGATTACGCTGTTATCCGTGCGGTAACTCTTCCCTTTTAACAGTTAA
CTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAAACTATGTCTTGTCAGAC
CTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTGAGGGTA
AAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAAGGGAGGGGGGG
CGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAAACAATC
ACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGACAGGGT
CTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAATTCAAA
CTAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGGCCAAC
AATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCGCGGCA
ATTGAATCCCGTAGGCC

>B66S_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACTCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAAC TAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACGGG
CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG

CGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAAC
ATTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGAAAAACAGGCGA

>B66G_16S

GAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTGGTCTCG
CCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTCTTCCCTTTTAACAGTTAA
CTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAACTATGTCTTGTGACAC
CTTTTAAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTGAGGGTA
AAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAAGGGAGGGGGGG
CGTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTAATAACAAAACAATC
ACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTCGACAGGGT
CTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAATTCAAA
CTAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGGCCAAC
AATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCGCGGCA
ATTGAATCCCGTAGGCC

>B66G_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAACATAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACGGG
CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG
CGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAAC
ATTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGAAAAACAGGCGA

>B107S_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTCAATTTTATAAGTAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCAATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAACATAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGG
CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG
CGGCAATTGAATCCCGTAGGCC

>B107G_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTCTTCCCTTTTAAC

AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCATGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTCGAC
AGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAAT
TCAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACGGG
CCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCG
CGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAATAAC
ATTCACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTGAAAAACAGGCGA

>B105S_16S

TTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTG
GTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTCCCTTTTAAC
AGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAAACTATGTCTTG
TCAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTG
AGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCANTGGAG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACAAA
ACAATNNCTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTCGA
CAGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAA
TTCAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAG
GCCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACC
GCGGCAATTGAATCCCGTAGGCC

>B102G_16S

TCAGATCACGTAAGGCTTTAATGGTTCGAACAGACCAACCCTTAGAAGCCCCT
GCACTTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAAT
GTGGTCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTCCCTTTT
AACAGTTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAAACTATGTC
TTGTCAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCC
CTGAGGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCATGG
AGGGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCAACCAAAGGTTTAATAACA
AAACAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTC
GACAGGGTCTAATCGTCTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTA
AATTCAAACATAATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATAC
GGGCAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTA
CCGCGGCAATTGAATCCCGTAGGCCATTGTGCAGGTGTGACCTCCCGGGAAT
AACATTACATGTCTGCGGAGGGCCATGTTTTTAAAAAA

>B102S_16S

TTCTGGAGGCCCTAAGCCAACATCGAGGTCGCAAACCCTCCCCTTAATGTGG
TCTCGCCGGGAAGATTACGCTGTTATCCCTGCGGTAACCTTCCCTTTTAACA
GTAACTGAAACACAGTTCTTTAGGTTTCATTTTATAAGTAAACTATGTCTTGT
CAGACCTTTTTTAATTAATCAAGTGATTACTTTCCTGAAGGCCAATTGCCCTGA
GGGTAAAGTCACTATTACCCTTATCAAAGTGGGTGCTAACTTTCANTGGAGG
GGGGGGCGTTTTTTTTTAGTCCCCGGTTACCCCANCCAAAGGTTTAATAACAAA

CAATCACTGCCTTTATTAGGCAAGTTGGTGGGTAAGCTACCTAAAGTTTCGACA
GGGTCTAATCGTCTTTTCAGATATATCTGGGCCTTTTCACCCAGAAGTTAAATT
CAAATAATATAACCGAGACAGCGCCACCAGCGTCGTACCATTTCATACAGGC
CAACAATTAATAGGCTATTGATTACGCTACCTTTGCAGCGGTCAGGTTACCGC
GGCAATTGAATCCCGTAGGCC

Nucella lapillus

>B136S_16S

CGGCTGCATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTTTT
TCGATTAGAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTAAT
TTCTTTAATCAAAATTTTTGGATCAGTACTTGAATGTGTTAATATTTACACAG
GAAGCTTTGTTTGTTCCTCAGTCGCCCACTAAAATGATTTAATAGTAAAAT
TTGTATTACAAATACTAATTTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTTAAAG

>B136G_16S

CGGCTGCATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTTTT
TCGATTAGAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTAAT
TTCTTTAATCAAAATTTTTGGATCAGTACTTGAATGTATTAATATTTACACAG
GAAGCTTTGTTTGTTCCTCAGTCGCCCACTAAAATGATTTAATAGCAAAAT
TTGTATTACAAATACTAATTTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTTAAAG

>B138S_16S

GACGGCTGCATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTT
TTTCGATTAGAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTA
ATTTCTTTAATCAAAATTTTTGGATCAGTACTTGAATGTGTTAATATTTACACA
GGAAGCTTTGTTTGTTCCTCAGTCGCCCACTAAAATGATTTAATAGTAAAA
TTTGTATTACAAATACTAATTTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTTAAAG

>B138G_16S

GACGGCTGCATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTT
TTTCGATTAGAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTA
ATTTCTTTAATCAAAATTTTTGGATCAGTACTTGAATGTGTTAATATTTACACA
GGAAGCTTTGTTTGTTCCTCAGTCGCCCACTAAAATGATTTAATAGTAAAA
TTTGTATTACAAATACTAATTTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTTAAAGCTCG

>B345S_16S

ATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTTTTTTCGATTA
GAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTAATTTCTTTAA
TCAAAATTTTTGGATCAGTACTTGAATGTATTAATATTTACACAGGAAGCTTT
GTTTGTTCCTCAGTCGCCCACTAAAATGATTTAATAGTAAAATTTGTATTA
CAAATACTAATTTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTTAAAGCTCGATAGGGTCTTCTT
GTCTTTCAATAAAATATAGGCTTCTTCACCTATAAATAAAATTCAAATTAATT
ATAAAGAGACAGCTTTATTCTTGTCGGACCATTCATACAAGCCTTCAGTTATA
AGGCAAATGATTATGCGACCTTTGCACGGTCAGAGTACCGCGGCCGCTAAAA

AATTTCACTGGGCAGGTCCGACTCCCTATTTTTAAAATACAAGGAGCCATGTT
TTTGATAAACAGGCGA

>B345G_16S

TGCATCTTTAGGATATTCTGGTCCAACATCGAGGTCACAAACCTTTTTTCGA
TTAGAACTCTCAAAAAAGATAATGCTGTGAGTCCCTACGGTAACTAATTTCTT
TAATCAAAATTTTTGGGATCAGTACTTGAATGTGTTAATATTTACACAGGAAGC
TTTGTTTGTTCCTCAGTCGCCCCAACTAAAATGATTTAATAGTAAAATTTGTA
TTACAAATACTAATTTTTAAGTTTATTAATTTTTTTAAAGCTCGATAGGGTCTT
CTTGTCTTTCAATAAAATATAGGCTTCTTCACCTATAAATAAAATTCAAATTA
ATTATAAAGAGGCAGCTTTATTCTTGTGCGACCATTTCATACAAGCCTTCAGTT
ATAAGGCAAATGATTATGCGACCTTTGCNCGGNCGGAGGACCGCGGCCGCTA
AAAAATTTACACGGGCAGGGGCGACTCCCTATTTTTAAAATACAAGGAGCC

Viviparus ater

>B350G_16S

ACATTTTTAGGATATTTTAGTCCAACATCGAGGTCACAACCCCTCCTTTTCGAT
AAGAACTCTCAAAGAAGATTAGCTGTTATCCCTATGGTAACTATCTCTTTTAA
CCAAATTATATTGGGTCAAACATATCAGTTATAATAATGATAGGAAGCTCT
ATTTGTTCCCTTAGTCGCCCCAACTAAAAAATCTTCCAGATTTAAATTTTCAAT
AATAATTATAACCTTAAAATCATTAAAGCTCAATAGGGTCTTCTTGTCTTTT
AATTAAATTTAAATCTCTTCATTAAAGCCAATTTTTAAACAATATAAATGA
GACAGCCTTAATTCGTTTAACCATTCATTCCAGTCTTTAATTATAAGACAAT
TGATTATGCTACCTTCGCACGGTTCAAGGTACCGCGGCCGTTTAAAAATACTA
ATTTCACTGG

>B348S_16S

ACATTTTTAGGATATTTTAGTCCAACATCGAGGTCACAACCCCTCCTTTTCGAT
AAGAACTCTCAAAGAAGATTAGCTGTTATCCCTATGGTAACTATCTCTTTTAA
CCAAATTATATTGGGTCAAACATATCAGTTATAATAATGATAGGAAGCTCT
ATTTGTTCCCTTAGTCGCCCCAACTAAAAAATCTTCCAGATTTAAATTTTCAAT
AATAATTATAACCTTAAAATCATTAAAGCTCAATAGGGTCTTCTTGTCTTTT
AATTAAATTTAAATCTCTTCATTAAAGCCAATTTTTAAACAATATAAATGA
GACAGCCTTAATTCGTTTAACCATTCATTCCAGTCTTTAATTATAAGACAAT
TGATTATGCTACCTTCGCACGGTTCAAGGTACCGCGGCCGTTTAAAAATACTA
ATTTCACTGG

>B348G_16S

ACATTTTTAGGATATTTTAGTCCAACATCGAGGTCACAACCCCTCCTTTTCGAT
AAGAACTCTCAAAGAAGATTAGCTGTTATCCCTATGGTAACTATCTCTTTTAA
CCAAATTATATTGGGTCAAACATATCAGTTATAATAATGATAGGAAGCTCT
ATTTGTTCCCTTAGTCGCCCCAACTAAAAAATCTTCCAGATTTAAATTTTCAAT
AATAATTATAACCTTAAAATCATTAAAGCTCAATAGGGTCTTCTTGTCTTTT
AATTAAATTTAAATCTCTTCATTAAAGCCAATTTTTAAACAATATAAATGA

GACAGCCTTAATTTTCGTTTAACCATTCATTCCAGTCTTTAATTATAAGACAAT
TGATTATGCTACCTTCGCACGGTTCAAGGTACCGCGGCCGTTTAAAAATACTA
ATTTCACTGG

Figure S7. Liste complète des séquences obtenues dans le cadre de ce projet de maîtrise. Le nom de l'espèce associée aux séquences est indiqué au-dessus de ces dernières en gras. L'identification de chaque séquence comprend (i) le numéro d'individu en laboratoire, (ii) le type de tissus dont la séquence provient, (iii) l'identification du gène et (iv) le sexe de chaque variante si l'espèce possède la DUI.